
PROSESSIKEMIKAALIEN HÄIRIÖVAIKUTUS AD-PROSESSISSA



Euroopan unioni
Euroopan aluekehitysrahasto

HAMK
HÄMEEN AMMATTIKORKEAKOULU

Ammattikorkeakoulun opinnäytetyö
Bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma

Hämeenlinna, kevät 2015

Kimmo Sääluoto



VISAMÄKI
Bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma
Ympäristöbiotekniikka



Tekijä	Kimmo Sääluoto	Vuosi 2015
Työn nimi	Prosessikemikaalien häiriövaikutus AD-prosessissa	

TIIVISTELMÄ

Opinnäytetyö liittyy Bioliike-hankkeeseen, joka alkoi helmikuussa 2013. Bioliike on Euroopan aluekehitysrahaston (EAKR) hanke, jonka tavoitteena on kehittää biojätteistä ja lietteistä kestävää liiketoimintaa. Hankkeen rahoitus tuli Etelä-Suomen EAKR-ohjelmasta.

Opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää AD-prosessiin liittyvien prosessikemikaalien vaikutusta. Kemikaalit tässä yhteydessä ovat metallisuoloja sekä erilaisia polymeerejä, joita käytetään AD-prosessiin tulevan syötteen käsittelyssä. AD-prosessin prosessihäiriö liitetään usein inhibitioon, jonka aiheuttaa tavallisesti pH:n lasku ja ammoniakkin tai rikkivedyn kertyminen. Inhibitiot johtuvat usein syöttestä. Kemikaalien annostuksissa ei yleensä esiinny suurta vaihtelua tai yliannostusta, jolloin mahdollinen inhibitio on lievää ja kroonista.

Työ on pääosin kirjallinen selvitys, johon koottiin tutkimustietoa kemikaalien aiheuttamasta inhibitiosta. Tiedot koottiin lähinnä Elsevier-tietokannasta löytyvistä tieteellisistä julkaisuista. Aihepiiri vaihtelee AD-prosessin metaanintuotosta metaanintuoton ehkäisyyn märehtijöiden ruoansulatuksessa. Kirjallisuusselvityksen lisäksi tehtiin kaksi panoskoetta sisältänyt kokeellinen osa, jossa vertailtiin ultraäänikäsittelyn sekä epäorgaanisen ja orgaanisen polymeerin vaikutusta metaanintuottoon. Kokeet suoritettiin Hämeen ammattikorkeakoulun ympäristölaboratoriossa kesä-elokuussa 2014.

Kokeellisessa osassa havaittiin kationisen epäorgaanisen polymeerin biohajoavuutta vähentävä vaikutus. Ultraäänikäsittely puolestaan paransi biohajoavuutta. Kirjallisuusselvityksessä korostuu AD-prosessin moninaisuudesta johtuva tutkimustulosten hajonta. Siksi yleispätevien suositusten tekeminen on hankalaa.

Avainsanat AD-prosessi, inhibitio, prosessikemikaalit, metaanintuotto

Sivut 53 s. + liitteet 6 s



VISAMÄKI

Degree Programme in Biotechnology and Food Engineering
Environmental Biotechnology



Euroopan unioni
Euroopan aluekehitysrahasto

Author	Kimmo Sääluoto	Year 2015
Subject of Bachelor's thesis	Inhibitory impact of process chemicals on AD-process	

ABSTRACT

This Bachelor's thesis is associated with the Bioliike project, which launched in February 2013 by the European Regional Development Fund (ERDF) and was funded by ERDF South Finland. The aim of the project was to develop sustainable business of biowaste and sludge.


The objective of this thesis was to study the inhibitory impact of process chemicals related to the substrate of AD-process. The chemicals are metal salts and various polymers used in the treatment of this substrate. AD-process malfunctions are generally referred to as an acute inhibition, caused by pH drop or ammonia and hydrogen sulfide cumulation, usually associated with properties of the substrate. The chemical dose fluctuation or overdosing is more infrequent and possible inhibition is arguably minor and chronic by nature.

The thesis consists of a literature review, compiled of various research articles addressing chemical-derived inhibition. Articles were acquired predominantly from Elsevier database. Research topics vary from the AD-process methane yield to methane output reduction in a ruminant's digestion. Along with the literature review, two batch digestion experiments were conducted comparing methane yield of samples treated with organic and inorganic polymeric flocculant and the effect of sonification on biodegradability. The experiments were carried out in the environmental laboratory of Häme University of Applied Sciences during June–August of 2014.

During the experiments cationic inorganic polymeric flocculant was observed to reduce methane yield while sonification remedied biodegradability. The literature review highlights the dispersion of research results, which is attributed to the high diversity of the AD-process. Therefore giving universally applicable guidelines is challenging.

Keywords AD-process, inhibition, process chemicals, methane yield

Pages 53 p. + appendices 6 p.



SISÄLLYS

1	JOHDANTO	1
2	ANAEROBINEN HAJOAMINEN	2
2.1	AD-prosessin vaiheet	2
2.1.1	Hydrolyysi	3
2.1.2	Asidogeneesi	4
2.1.3	Asetogeneesi	5
2.1.4	Metanogeneesi	5
2.2	Prosessityypit	6
3	MIKROBIT JA INHIBITIO AD-PROSESSISSA	7
3.1	Bakteerit AD-prosessissa Nelsonin, Morrisonin ja Yun mukaan	8
3.1.1	Chloroflexi	9
3.1.2	Proteobacteria	9
3.1.3	Firmicutes	9
3.1.4	Bacteroidetes	10
3.1.5	Pienemmät pääjaksot	10
3.2	Arkit AD-prosessissa Nelsonin, Morrisonin ja Yun mukaan	11
3.3	Mikrobien sopeutuminen inhiboiiviin tekijöihin	11
3.4	Inhibition tunnistaminen	13
4	PROSESSIKEMIKAALIT	14
4.1	Alumiini	15
4.1.1	Alumiinikloridi	15
4.1.2	Alumiinikloorihydraatti	15
4.1.3	Alumiinisulfaatti	15
4.1.4	Polyalumiinikloridi	16
4.2	Rauta	16
4.2.1	Ferri- ja ferrosulfaatti	16
4.2.2	Ferri- ja ferrokloridi	17
4.2.3	Ferropersulfaatti	17
4.2.4	Nollavalenssirauta	17
4.3	Polymeerit	17
4.3.1	Polyakryyliamidi PAM	18
4.3.2	Biopolymeerit	19
4.4	Vaahdonestoaineet	20
5	PROSESSIKEMIKAALIEN VAIKUTUKSIA AD-PROSESSISSA	21
5.1	Alumiini	21
5.1.1	Alumiinikloridi	23

5.1.2	Alumiinisulfaatti.....	25
5.1.3	Polyalumiinikloridi.....	26
5.2	Rauta.....	27
5.2.1	Ferrokloridi ja ferrosulfaatti	28
5.2.2	Ferro(II)-persulfaatti.....	29
5.2.3	Nollavalenssirauta	30
5.3	Polymeerit	30
5.4	Luonnollisten polymeerien havaittuja vaikutuksia	33
5.4.1	Kitosaani.....	33
5.4.2	Tanniini.....	35
5.5	Vaahdonestoaineiden vaikutus.....	36
5.6	Flokkulanttien vaikutus mikrobien EPS ja SMP-tuotantoon	37
5.7	Nanopartikkelikoon vaikutus	39
6	AIEMPIA BIOLIIKE-HANKKEEN TULOKSIA.....	39
7	KOKEELLINEN OSA	41
7.1	Kokeellisen osan tausta	41
7.2	Materiaalit ja menetelmät.....	43
8	TULOSTEN TARKASTELU	44
8.1	Metaanituotot	44
8.2	Virhetarkastelu	49
9	JOHTOPÄÄTÖKSET JA POHDINTA	52
9.1	Kokeellinen osa.....	52
9.2	Prosessikemikaalien häiriövaikutukset	53
	LÄHTEET	54

Liite 1	Ammoniakki-inhibitio eri lähteissä
Liite 2	Kemialliset koagulantit ja flokkulantit
Liite 3	Kopolymeerisia flokkulantteja
Liite 4	Luonnollisia polymeerejä
Liite 5	14 vrk panoskokeen metaanituottojen keskiarvot
Liite 6	22 vrk panoskokeen metaanituottojen keskiarvot

Lyhenteet

ACGC	Acrylamide Chitosan Graft Copolymer
AD	Anaerobic Digestion
BA	Bicarbonate Alkalinity
COD	Chemical Oxygen Demand
DGGE	Denaturing Gradient Gel Electrophoresis
EPS	Extracellular Polymeric Substance
FISH	Fluorescence in Situ Hybridization (CARD-FISH, Catalyzed Reporter Division FISH)
HRT	Hydraulic Retention Time
IA/PA	Intermediate Alkalinity/Partial Alkalinity
LCFA	Long Chain Fatty Acid
OLR	Organic Loading Rate
ORP	Oxidative-Reductive Potential
OTU	Operational Taxonomic Unit
PAC	Polyaluminium chloride
PAM	Polyacrylamide
PCR	Polymerase Chain Reaction qPCR quantitative PCR
PFS	Polymeric Ferric Sulfate
RO	Reverse Osmosis
SMA	Specific Methanogenic Activity
SMP	Soluble Microbial Product
SRB	Sulfate Reducing Bacteria
SRT	Sludge Retention Time
SS	Suspended Solids
SVI	Sludge Volume Index
TA	Total Alkalinity
TPAD	Temperature Phased Anaerobic Digestion
T-RFLP	Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism
TSS	Total Suspended Solids
VFA	Volatile Fatty Acid
VS	Volatile Solids
VSS	Volatile Suspended Solids
UASB	Upflow Anaerobic Bioreactor

1 JOHDANTO

Anaerobisessa AD-prosessissa tapahtuu prosessisyötteen hajoaminen hapettomissa eli anaerobisissa olosuhteissa (Anaerobic Digestion). Tärkeimpiä AD-prosessin toimintaan vaikuttavia tekijöitä ovat lämpötila, syöte, kuormitus, pH ja alkaliniteetti. Toisin kuin aerobisissa prosesseissa, AD-prosessin reaktioissa syntyy hyvin vähän lämpöä. Suuri osa energiasta siirtyy lopputuotteiden kemialliseksi energiaksi ja prosessiin voidaan joutua tuomaan lämpöenergiaa prosessin ylläpitämiseksi. Syöte ja kuormitus viipymäaikoineen vaativat mikrobien sopeutumista kulloiseenkin tasoon, jolloin suuret vaihtelut tai haitalliset aineet aiheuttavat helposti epätasapainon. Sama koskee pH:ta ja alkaliniteettia, koska prosessi toimii parhaiten neutraalin pH:n alueella, joka taas vaatii riittävästi alkaliniteettia.

Monista AD-prosessin toiminnan tehokkuuteen vaikuttavista tekijöistä käsitellään tässä työssä toksisuutta sekä erilaisten prosessikemikaalien osuutta toksisuuteen. Prosessikemikaalit tässä yhteydessä ovat alumiini- ja metallisuoloja sekä erilaisia polymeerejä, joita käytetään AD-prosessiin tulevan syötteen käsitelyssä. Syötteen eri komponentit voivat sisältää lisättyjä kemikaaleja aiemmista prosesseista ja näin voi syntyä suuri määrä erilaisia yhteisvaikutuksia. Näitä on käytännössä vaikea hallita AD-prosessien syötteiden monimuotoisuuden ja vaihtelun vuoksi.

Mikrobien kemikaaliperäisessä inhibitiossa suurin vaikuttava tekijä on annostus ja annoksen äkillisyys. Tyypillisesti prosessikemikaalin vaikutus voi olla pienenä annoksena metaanituottoa stimuloiva ja annoksen kasvaessa muuttua ensin kohtuullisesti ja lopulta voimakkaasti inhiboivaksi. Prosessin häiriötä ilmaisevat tällöin tavalliset inhibition tunnusmerkit, kuten pH:n ja alkaliniteetin muutokset, metaanituoton lasku ja haihtuvien rasvahappojen eli VFA:n kertyminen.

Toksisuus voi olla akuuttia, jolloin prosessiin muodostuu nopeasti suuri määrä haitallisia yhdisteitä ja metaanintuotto häiriintyy voimakkaasti tai lakkaa kokonaan. Toksisuus voi olla myös kroonista, jolloin sopeutumisvaiheen jälkeen metaanintuottajat sietävät toksisuutta ja prosessi toimii ehkä alentuneella teholla tai saavuttaa hitaasti aiemman tehotason.

Opinnäytetyö liittyi helmikuussa 2013 alkaneeseen EAKR-hankkeeseen ”Biojätteistä ja lietteistä kestävää toimintaa” (Bioliike). Mukana hankkeen toteuttajissa ovat Hämeen ammattikorkeakoulu, Lahden ammattikorkeakoulu ja Laurea-ammattikorkeakoulu sekä yritysmaailmasta jäte- ja vesihuollon sekä biopolttoaineiden tuottajia. Hankkeen rahoitus tulee Etelä-Suomen EAKR-ohjelmasta.

Tämän opinnäytetyön toimeksiantaja oli Hämeen ammattikorkeakoulu. Tavoitteena oli koostaa tietoa prosessikemikaalien haittavaikutuksista AD-prosessissa hyödyntämällä aiheeseen liittyviä tutkimuksia eri lähteistä.

2 ANAEROBINEN HAJOAMINEN

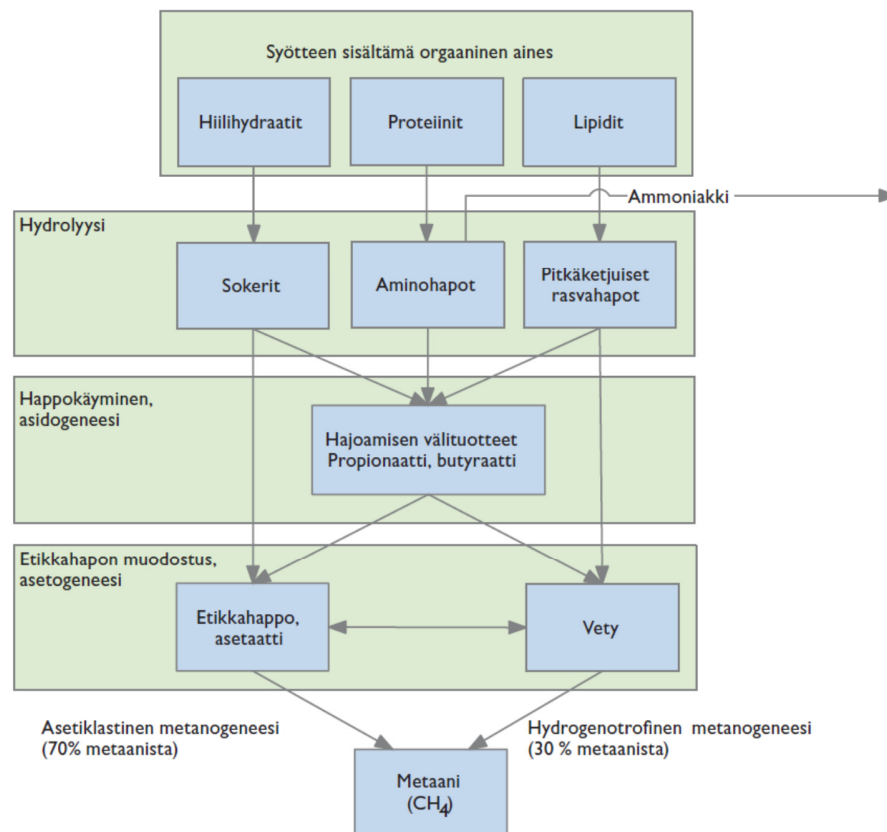
AD-prosessissa muodostuu biokaasua, eli pääasiassa metaania (CH_4) ja hiilidioksidia (CO_2) sisältävää kaasuseosta. Biokaasu sisältää myös pieniä määriä vetyä (H_2), vettä (H_2O), typpeä (N_2), ammoniakkia (NH_3) ja rikkivetyä (H_2S). Biokaasun tärkein osa metaani on yhden mikrobiryhmän eli metanogeenien sivutuote, jota muut mikrobit eivät hyödynnä. Metaani nousee reaktorin nesteosasta kaasutilaan biokaasun muiden komponenttien mukana. Kaasutilasta biokaasu johdetaan edelleen puhdistettavaksi.

Anaerobiselle hajoamiselle on tyypillistä mikrobiyhteisöjen metaboliset vuorovaikutukset hapettomissa olosuhteissa. Raaka-aine AD-prosessille tulee syötteiden monimutkaisina biopolymeereinä. Ensimmäinen mikrobiyhteisö hajottaa prosessin hydrolyysivaiheessa näitä polymeerejä veden avulla yksinkertaisemmiksi monomeereiksi, esimerkiksi glukooksi ja aminohapoiksi. Toinen mikrobiyhteisö vuorostaan fermentoi ja hapettaa ensimmäisen yhteisön tuotteita seuraavan vaiheen hyödyntämiksi tuotteiksi jne. Tyypillistä AD-prosessille on, että yhden mikrobiryhmän tuottamat aineet ovat tälle ryhmälle jätettä mutta toimivat substraattina toiselle mikrobiryhmälle.

Mädätysprosessin optimaalinen ja vakaa toiminta vaatii mikrobiyhteisöjen välistä tasapainoa. Tasapaino riippuu reaktorin olosuhteista, joiden tulisi olla mahdollisimman laajaa mikrobiyhteisöä ylläpitävät. Yhteisön osapuolet eroavat herkkyydeltään toisistaan. Voimakkaimmin syötevaihteluihin reagoivia ovat hydrolyyttiset bakteerit ja metanogeenit. Prosessin kannalta kriittisimpiä ovat orgaanisia happoja, kuten asetaattia, butyraattia ja propionaattia hyödyntävät mikrobit. Häiriöt niiden yhteisöissä aiheuttavat nopeasti orgaanisten happojen kumuloitumista, josta seuraa pH:n lasku ja haitallinen vaikutus koko mikrobilajistoon ja sen myötä metaanintuottoon.

2.1 AD-prosessin vaiheet

AD-prosessi jaetaan tavallisesti neljään vaiheeseen, jotka näille vaiheille tunnusomaiset mikrobiyhteisöt muodostavat. Vaiheet ovat hydrolyysi, asidogeneesi, asetogeneesi ja metanogeneesi (Kuva 1, s. 3).



Kuva 1. AD-prosessin vaiheet (Latvala 2009, 30).

2.1.1 Hydrolyysi

Hydrolyysissä fakultatiivit ja obligaatit anaerobiset bakteerit hajottavat orgaaniset polymeerit pienemmiksi molekyyleiksi, enimmäkseen monomeerisiksi yksiköiksi. Hajotus tapahtuu mikrobien erittämällä solunulkoisilla hydrolyyttisillä entsyymeillä, hydrolaaseilla. Lisäksi tapahtuu myös hajottavia fysikaalis-kemiallisia reaktioita ilman entsyymeitä. Mikrobit tuottavat entsyymit suoraan ympäröivään liuokseen tai ne voivat kiinnittyä erikoistuneilla soluseinän proteiineilla ainepartikkeliin ja erittää entsyymit partikkelin välittömään läheisyyteen, jolloin hajotustuotteiden saatavuus on parempi. (Schnürer & Jarvis 2009, 13–15.)

Entsyymit ovat substraattikohtaisia: lipidit hajoavat lipaaseilla, proteiinit proteaaseilla, selluloosa sellulaasilla jne. Mikrobit voivat olla erikoistuneita yhden entsyymin tuottoon tai tuottaa useampia entsyymejä, jolloin ne voivat hajottaa useamman tyyppisiä orgaanisia aineita. (Schnürer & Jarvis 2009, 14.)

Polysakkaridit kuten selluloosa, hemiselluloosa, tärkkelys, pektiini ja glyko-geeni hajoavat hydrolyysissä yksinkertaisemmiksi sokereiksi. Polysakkarideja

hajottavat mikrobit ovat sakkarolyyttejä ja kuuluvat yleensä sukuihin *Acetivibrio*, *Bacteroides* ja *Clostridium*. Aminohappoketjuja eli proteiineja ja peptidejä hajottavat mikrobit ovat proteolyyttejä ja kuuluvat usein *Clostridium*-, *Peptostreptococcus*- ja *Bifidbacterium*-sukuihin. Proteiinista osa on glykoproteiinia, joka sisältää aminohappojen lisäksi myös hiilihydraatteja. Glykoproteiinin hajotessa syntyy siten sokereita aminohappojen lisäksi. (Schnürer & Jarvis 2009, 14–15.)

Rasvat eli lipidit ovat syötteen biopolymeereistä monimutkaisimpia ja koostuvat yleensä glyserolista ja rasvahapoista. Rasvoja pilkkovia lipaasientsyymejä tuottavat aerobiset ja fakultatiivisesti aerobiset mikrobit sekä obligaatit anaerobit. Lipaasit muuntavat rasvat pitkäketjuisiksi rasvahapoiksi, (LCFA, Long Chain Fatty Acid). Näitä ovat mm. oleiini-, palmitiini- ja steariinihapot. (Schnürer & Jarvis 2009, 15.)

LCFA-pitoisuuden kasvusta johtuvaa AD-prosessin inhibitiota on pidetty pysyvänä mutta Pereira, Pires, Mota ja Alves (2005, 15) osoittivat prosessin palautuvan ja inhibition liittyvän aineensiirron estymiseen. Silloin kun LCFA on syötejohdannaista, sen mineralisoituminen on tehokasta ja sen seurauksena metanogeenien aktiivisuus kasvaa.

Kun mikrobit tuottavat sopivia entsyymejä ja substraatti on helposti entsyymien muokattavissa, on hydrolyysi suhteellisen nopea vaihe. Jos taas substraatti on vaikeammin muokattavaa, esimerkiksi lignoselluloosaa, tulee hydrolyysistä rajoittava vaihe. Hydrolyysissä olosuhteet ovat mikroaerobiset ja hapen loputtua olosuhteet muodostuvat seuraavissa vaiheissa anaerobisiksi. (Schnürer & Jarvis 2009, 14.)

2.1.2 Asidogeneesi

Asidogeneesissä hydrolyysituotteista fermentoituu haihtuvia rasvahappoja (Volatile Fatty Acids, VFA), joiden tuotannon ja metabolisoinnin nopeus vaikuttaa koko AD-prosessiin. Päätuotteita ovat orgaaniset hapot propionihappo, butyyrihappo, etikkahappo, muurahaishappo ja maitohappo sekä ketonit, alkoholit, vety ja hiilidioksidi. Orgaanisen hapon varauksellisen (anionin) ja varauksettoman muodon välisessä tasapainossa, kun pKa-arvo on vallitsevaa pH:ta matalampi, esiintyy happo pääasiassa anionina ja päinvastaisessa tapauksessa varauksettomana, esimerkiksi etikkahapon anioni on asetaatti (Kaava 1).



Orgaaniset hapot ovat AD-prosessin tavanomaisessa pH:ssa $> 7,0$ pääosin anionimuodossa, esimerkiksi propionihappo esiintyy anionimuodossaan propionaattina (Kaava 2). (Schnürer & Jarvis 2009, 15–16).



LCFA:t hajotetaan pääsääntöisesti vasta asidogeneesiä seuraavassa vaiheessa, asetogeneesissä. Asidogeneesissä on mukana osittain samoja mikrobiyhteisöjä kuin hydrolyysissä mutta myös uusia asidogeneesille spesifisiä lajeja. Muodostuvat fermentointituotteet riippuvat paljon mikrobiyhteisöjen koostumuksesta, substraatista sekä prosessiolosuhteista. Esimerkiksi propionihapon muodostumista pidetään fakultatiivisten ja butyyrihapon obligaatien anaerobien prosessina. Fermentointituotteet ovat tuottajille hyödyttömiä mutta niitä hyödyntävät seuraavien vaiheiden mikrobit. (Schnürer & Jarvis 2009, 17.)

2.1.3 Asetogeneesi

Asetogeneesissä tapahtuu edellisten vaiheiden tuotteiden hajoaminen erilaisissa anaerobisen oksidaation reaktioissa. Asetogeneesin substraatteja ovat erilaiset rasvahapot, alkoholit, aminihapot ja aromaattiset yhdisteet. Tässä vaiheessa muodostuu vetyä protonien toimiessa elektronien vastaanottajina. Vedyn osapaineella on tärkeä merkitys mikrobiyhteisöjen tasapainolle. Mikrobiyhteisöjen välinen syntrofia, jossa toiset mikrobit kuluttavat toisten tuottaman vedyn pitäen sen osapaineen sopivana, on edellytys anaerobisen oksidaation jatkumiselle. Propionaatti ja muut VFA:t muuntuvat asetaatiksi, hiilidioksidiksi ja vedyksi, jotka ovat metanogeneesin pääsubstraatteja. (Schnürer & Jarvis 2009, 18.)

2.1.4 Metanogeneesi

Metanogeenien osuus anaerobisessa prosessissa on paremmin tunnettu kuin edellä esitettyjen mikrobiyhteisöjen. Metanogeneesissä muodostuu metaania ja hiilidioksidia pääsubstraateista asetaatista ja vedystä (hiilidioksidi on myös substraatti). Pääosa metaanista muodostuu asetaatista asetotrofisten metanogeenien tuottamana, tunnetut lajit ovat *Methanosaeta* ja *Methanosarcina*. Toinen metanogeenien pääryhmä on hydrogenotrofiset metanogeenit, joka käyttää vetyä ja hiilidioksidia substraattina. Hydrogenotrofisia lajeja on enemmän, tunnetuimpia *Methanobacterium*, *Methanococcus*, *Methanogenium* ja *Methanorevibacter*. (Schnürer & Jarvis 2009, 20.)

Arkkeihin kuuluvat metanogeenit muistuttavat enemmän eukaryootteja kuin prokaryootteja. Metanogeenien hitaasta kasvunopeudesta johtuen metanogeneesi on usein rajoittava vaihe AD-prosessissa. Hidas kasvunopeus tekee metanogeneesin myös haavoittuvaksi häiriötilanteille, joiden seurauksena nopeammin kasvavat bakteerit voivat vallata metanogeenien resurssit. Metanogeenien kasvunopeus asettaa myös viipymäajalle rajoituksia. Kun viipymäaika on liian lyhyt, tyypillisesti alle 12 vuorokautta, kasvaa riski metanogeenien uloshuuhtoutumisesta, koska kasvunopeus ei riitä korvaamaan reaktorin sisäänulosvirtauksen vaikutusta. Metanogeenit itsessään eroavat eliömuotona prosessin muista mikrobeista ja ovat arempia pH-muutoksille ja myrkyllisille yhdisteille kuin AD-prosessin enemmistön muodostavat bakteerit. Metanogeenien inhiboituessa vaikutus ulottuu myös niistä riippuvaisiin bakteereihin ja lopulta koko prosessiin. (Schnürer & Jarvis 2009, 20.)

2.2 Prosessityypit

AD-prosessit jaotellaan monin eri tavoin. Jaottelu toimintalämpötilan, reaktori-tyypin, erillisten vaiheiden lukumäärän, jatkuva- ja panostoimisuuden tai kuiva-ainepitoisuuden mukaan ovat tavallisia jaotteluperusteita. Prosessi voi olla ns. low-rate, kuten yksinkertainen anaerobisten olosuhteiden lammikko tai septitankki, jotka ovat yleensä sekoittamattomia. Olosuhteita ei säädetä (pH, lämpötila), OLR (1–2 kg COD/m³) ja metaanituotto ovat matalia. Low-rate-reaktoreita ei juuri käytetä bioenergian tuotantoon, poikkeuksia tosin on. High-rate-reaktorien olosuhteita säädetään, OLR on korkea (5–30 kg COD/m³), ja biomassan osuus suuri. (Khanal 2009, 94.)

Lämpötilan mukaan (optimaalinen sulkeissa) jaotellaan prosessit psykrofiiliisiin (5–15 °C), mesofiilisiin (35–40 °C), ja termofiilisiin (55 °C), joista kaksi viime mainittua ovat käyttökelpoisimpia. Optimaalisen lämpötila-alueen ulkopuolella tuotanto laskee. Kylmimmän psykrofiilisen prosessin reaktiot ovat hitaampia ja biokaasun tuotanto siten alhaisempi. (Khanal 2009, 43.)

Reaktori-tyypeistä yleisin on CSTR (Completely Stirred Tank Reactor). CSTR on yleensä pystymallinen ja lieriönmuotoinen säiliö, jossa on mekaaninen sekoittaja. Muita reaktorikonstruktioita on lukuisia ja ne sisältävät erilaisia leijuja ja lietepetiratkaisuja, kalvosuodatusreaktoreita ja kontaktiprosesseja, joissa biomassa immobilisoidaan sopiviin rakenteisiin biofilmiksi, joka on kontaktissa ohivirtaavan substraatin kanssa. Näiden high-rate reaktoreiden kyky pitää vedyn osapaine sopivan alhaisena arvioidaan hyväksi. (Khanal 2009, 94–95.)

Prosessit ovat tavallisesti yksi- tai kaksivaiheisia. Kaksivaiheisessa on erotettu hydrolyysi ja happoja muodostava fermentaatio ensimmäiseen vaiheeseen ja metaanintuottovaihe toiseen. Toisessa vaiheessa mikrobit voivat olla immobilisoituja kantajamateriaaliin, jolloin vuorovaikutus toimii hyvin. Kaksivaiheisuus sopii substraateille, joiden hydrolyysi ja asidifikaatio ovat niin nopeita, että metaanintuottovaihe voi häiriintyä välituotteiden kasautumisesta. (Schnürer & Jarvis 2009, 29.)

Jatkuvatoimisissa prosesseissa (Continuous Digestion) reaktoriin tuodaan uutta syötettä joko jatkuvana virtauksena (ka-pitoisuus < 5 %) tai sopivan kokoisina ja jaksoitettuina erinä (ka-pitoisuus 5–25 %). Vastaavasti reaktorista poistetaan sisältöä. Ka-pitoisuuden noustessa syöttöerien koko pienenee tai niiden välinen tauko pitenee. Tällaisesta prosessista käytetään joskus englanninkielisessä kirjallisuudessa termiä ”Semi-continuous Digestion”. Mikrobien kannalta jatkuvatoimisen prosessin substraatti on yhtenäisempää ja eri lajien yhteistyö hajotamisessa onnistuu paremmin kuin lisättäessä kerralla suuri määrä substraattia. Nesteen suuri osuus substraatista tekee siitä helposti pumpattavaa, joten prosessin hoito on helppoa. (Schnürer & Jarvis 2009, 28.)

Panostoimisessa prosessissa (Batch Digestion), panoskoon mukainen syöte lisätään kerralla ja poistetaan kokonaisuudessaan panoksen tultua käsitellyksi.

Prosessiin ei lisätä eikä siitä poisteta materiaalia käsittelyn aikana. Metaanintuotto on korkeimmillaan alussa ja laskee ajan myötä, kun jatkuvatoimisessa tuotto on periaatteessa tasaista. Panosprosessissa mikrobien uloshuuhtoutumista ei tapahdu ja substraatin hajottamiseen on runsaasti aikaa. Korkea kuiva-ainepitoisuus voi kuitenkin johtaa epätasaiseen hajoamistulokseen. (Schnürer & Jarvis 2009, 29.)

Ka-pitoisuuden mukaan jaotellaan prosessit kuiva- ja märkäprosesseihin. Märkäprosessien ka-pitoisuus on pieni, 2–15 %. Käsiteltävä massa on lietemäistä ja siirrettävissä pumppaamalla. Kuivaprosessissa massa käsitellään yleensä panosprosessina, jolloin ka-pitoisuus on 20–35 %. Uutta ja vanhaa massaa sekoitetaan ajoittain ja massan nesteosaa kierrätetään massapedin läpi paremman hajoamistuloksen saamiseksi. Kuiva- ja märkäprosesseilla on omat etunsa. Kuivaproessin eduista voidaan mainita pienemmän nestemäärän myötä pienempi energiankulutus, (pumppaus, sekoitus, nesteosan erotus), vaahdonmuodostusongelmien välttäminen ja pienempi rejektiveden määrä. Jos panokset jaetaan sopivasti ajoitettuihin moduuleihin, kaasuntuotto on tasaista eikä yhden modulin häiriö pysäytä koko prosessia. Kuivaproessi voi olla myös jatkuvatoiminen, esimerkiksi DRANCO-prosessi. (Schnürer & Jarvis 2009, 30–31.)

3 MIKROBIT JA INHIBITIO AD-PROSESSISSA

Viime vuosina molekulaaristen tekniikoiden kehitys on tuonut saataville menetelmiä, joilla on ollut mahdollista kartoittaa AD-prosessin monimutkaista mikrobilajistoa ja erilaisten prosessimuutosten vaikutusta siihen. Uudet 16rRNA-perustaiset menetelmät, kuten FISH, PCR, DGGE ja T-RFLP ovat entistä kustannustehokkaampia, nopeampia ja vähemmän työvoimaa vaativia. Siltikään ei ole täysin selvää, miten mikrobiyhteisöjen kokoonpano vaikuttaa AD-prosessin suorituskykyyn. Melko yksimielisiä ollaan siitä, että substraatin laaja ja tasapainoinen ravinnekoostumus muodostaa joustavan ja vastustuskykyisen mikrobilajiston. (Mata-Alvarez, Dosta, Romero-Güiza, Fonoll, Peces & Astals 2014, 422.)

AD-prosessin mikrobiyhteisöihin vaikuttavat prosessiparametrit, kuten pH, lämpötila, alkaliniteetti ym. Vaikutukseltaan suurimmaksi on arvioitu lämpötila. Termofiilisissä prosesseissa mikrobidiversiteetti on havaittu suppeamaksi kuin mesofiilisissä prosesseissa. Mesofiilisen prosessin on mm. havaittu sietävän termofiilistä paremmin suolastressiä (Na^+) monimuotoisemman mikrobilajiston sopeutuessa nopeammin. (Chen, Cheng & Creamer 2007, 4051.)

AD-prosessin eri hajoamisvaiheiden mikrobiyhteisöt poikkeavat toisistaan fysiologialtaan, kasvukinetiikaltaan, ravintovaatimuksiltaan ja olosuhdeherkkyydeltään. Osittain ristiriitaiset tarpeet eri yhteisöjen välillä johtavat kompromissiratkaisuihin olosuhteissa. Näin on varsinkin yksivaihereaktoreissa (*single-stage*), joissa kaikki AD-prosessin vaiheet tapahtuvat samassa reaktorissa. Monivaihereaktoreissa voidaan helpommin saavuttaa eri vaiheille optimaaliset

olosuhteet. Prosessista saadaan vakaampi ja metanogeenien aktiivisuus sekä COD:n poisto paranevat.

Yksi esimerkki monivaiheisesta prosessista on TPAD (Temperature Phased Anaerobic Digestion). Tyypillisesti TPAD koostuu termofiilisestä esikäsittelyreaktorista, jonka lämpötila on 50–70 °C ja viipymäaika 2–4 vrk, sekä mesofiilisestä toisen vaiheen reaktorista, jonka viipymäaika on 10–15 vrk. Esikäsittelyreaktorin mikrobilajisto koostuu hydrolyysi- ja asidogeneesi-vaiheen bakteereista, toisioreaktorin asetogeenisistä bakteereista ja metanogeenisistä arkeista. (Pervin, Dennis, Lim, Tyson, Batstone & Bond 2013, 7099.)

Pervin ym. (2013) vertasivat mesofiilistä ja termofiilistä esikäsittelyreaktoria ja havaitsivat, että mesofiilisen reaktorin bakteryhteisöjen koostumus riippui voimakkaammin syötteestä ja oli monipuolisempi. Termofiilisen reaktorin mikrobilajistoa dominoi kolme populaatiota: *Thermotogae sp.*, *Lutispora thermophila* ja *Coprothermobacter*, joiden välinen tasapaino muuttui jälkimmäisen populaation eduksi lämpötilan noustessa 50 °C → 65 °C.

Mikrobiologian näkökulmasta AD-prosessi voidaan jakaa vaiheisiin prosessin tärkeimpien mikrobiryhmien, bakteerien ja arkkien mukaan. Bakteerit tuottavat hydrolyysin, asidogeneesin ja asetogeneesin, arkit metanogeneesin.

AD-prosessin mikrobilajistosta on julkaistu lukuisia tutkimuksia. Cardinali-Rezende, Colturato L., Colturato T., Chartone-Souza, Nascimento ja Sanz (2012, 373) selvittivät kahden vuoden ajan yhdyskuntajätettä käsittelevän AD-prosessin prokaryoottista diversiteettiä 16srDNA-menetelmillä. Fermentoivat bakteerit *Bacteroidetes* ja *Firmicutes* olivat hallitsevia. Myös *Proteobacteria*, *Actinobacteria* ja *Tenericutes* olivat runsaslukuisia. Metaanintuottoa hallitsi hydrogenotrofinen *Methanomicrobiales*. FISH- ja CARD-FISH-analyysien mukaan 85 % diversiteetistä oli bakteereita ja 15 % arkkeja. FISH-analyysi tuotti eri tuloksia solumääristä kuin qPCR.

Suurin osa tutkimuksista on kohdistunut tiettyyn yksittäiseen AD-prosessiin. Tutkitut prosessit ovat eronneet mm. syötteeltään, reaktortyypiltään sekä maantieteelliseltä sijainniltaan ja ovat siten olleet fokuoituneita eivätkä kollektiivisia katsauksia AD-prosessin mikrobidiversiteettiin.

Nelson, Morrison ja Yu (2010, 3730) kartoittivat mikrobilajistoa meta-analyysinä, tilastoiden julkisista tietokannoista hankkimiaan AD-prosessien 16S rRNA geenijaksoja. Kaikkiaan analysoitiin 19 388 geenijaksoa, joista 16 519 oli bakteerien ja 2 869 arkkien.

3.1 Bakteerit AD-prosessissa Nelsonin, Morrisonin ja Yun mukaan

Nelsonin ym. 2010, (3734–3735) mukaan AD-prosessissa bakteerien enemmistö kuuluu *Bacteroidetes*-, *Firmicutes*-, *Proteobacteria*- ja *Chloroflexi*-pääjaksoihin. Edellisiä selvästi pienempiä tutkimuksessa olivat *Actinobacteria*,

Planctomyces ja *Synergistetes*, jotka erottuivat yli 1 %:n osuuksillaan 24 tunnistetusta vähemmistöpääjaksosta ja 1 667 luokittelemattomasta geenijaksosta. Vaikka edellinen analyysi ei sovi yleisesti jokaiseen AD-prosessiin, on useimmissa muissakin tutkimuksissa havaittu *Bacteroidetes*-, *Firmicutes*- ja *Proteobacteria*-lajit runsaslukuisiksi. Nämä myös osallistuvat yhteen tai useampaan AD-prosessin vaiheeseen.

3.1.1 Chloroflexi

Chloroflexi muodosti Nelsonin ym. (2010, 3734) tutkimuksessa 22 % bakteereista 3 744 geenijaksolla. Kolmeen muuhun enemmistöpääjakssoon verrattuna *Chloroflexin* diversiteetti oli kuitenkin pienin. OTUja, (Operational Taxonomic Unit), löytyi vain 693 ja 90 % pääjaksosta oli luokittelemattomia. Niiden osuus muodosti 13 % bakteerien geenijaksoista. Luokittelematon osuus käsitti kuusi OTUa, jotka määriteltiin luokittelemattomaksi *Anaerolineaceae*-heimoksi. Luokiteltuja tunnistettiin heimoista *Anaerolineaceae*, *Caldilinea*, *Dehalogenimonas* ja *Sphaerobacter*. Enemmistö *Chloroflexin* geenijaksoista oli peräisin yhdyskuntajätevedenpuhdistamojen mädättämölietteistä.

3.1.2 Proteobacteria

Toiseksi suurin pääjakso Nelsonin ym. (2010, 3734) tutkimuksessa oli *Proteobacteria*, 3 585 geenijaksoa, ja sen diversiteetti oli laajin, 1 590 OTUa. Valtaosa, n. 70 % *Proteobacterian* geenijaksoista voitiin liittää 169 tunnettuun sukuun. Kaikki viisi luokkaa olivat edustettuina, mutta *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, ja *Deltaproteobacteria* muodostivat 86 % kaikista. *Gammaproteobacterian* ja *Epsilonproteobacterian* geenijaksoja tavattiin 378 ja 58.

Brachymonas-suku oli runsaslukuisin *Proteobacterian* (*Betaproteobacteria*) edustaja ja otoksen neljänneksi suurin OTU. *Brachymonas* on denitrifioiva ja kykenee hajottamaan orgaanisia happoja. Toiseksi suurin *Proteobacterian* suku oli samoin orgaanisia happoja hajottava *Rhodobacter* (*Alphaproteobacteria*), kolmanneksi suurin propionaattia asetaatiksi hajottava *Smithella* (*Deltaproteobacteria*) ja neljänneksi suurin *Thauera* (*Betaproteobacteria*), orgaanisia happoja hajottava sekin. *Smithella* ja *Syntrophobacter* olivat propionaatin kuluttajina ymmärrettävästi runsaslukuisia. (Nelson ym. 2010, 3734.)

3.1.3 Firmicutes

Kolmanneksi suurin pääjakso Nelsonin ym. (2010, 3734) mukaan oli *Firmicutes* 2 549 geenijaksolla. Kaikkiaan 108 sukua tunnistettiin, 1 141 geenijaksoa. *Firmicutes*-pääjaksosta 86 % kuului luokkaan *Clostridia*, josta yli kolmasosa oli luokittelemattomia tai sijoitettiin luokittelemattomina lahkoon *Clostridiales*. Lisäksi 6,7 % määritettiin luokittelemattomina *Ruminococcaceae*-lahkoon, joka sisältää sellolyyttisiä ja amylolyyttisiä lajeja. (Nelson ym. 2010, 3734.)

Bacilli- ja *Erysipelotrichi*-luokkien geenijaksoja löytyi 172 ja 42. *Bacillin* yleisimmät suvut olivat *Lactococcus* ja *Bacillus*, 31 ja 29 geenijaksoa. Kaikki bakteerisuvut yli 5 %:n osuudella pääjaksosta *Firmicutes* kuuluivat luokkaan *Clostridia*, lukuun ottamatta butyraattia ja propionaattia hajottavaa asetogeenistä *Syntrophomonasta*. (Nelson ym. 2010, 3734.)

Yleisin *Clostridia*-luokan suku oli sellolyyttinen *Acetivibrio* 162 geenijaksolla ja toiseksi yleisin *Clostridium* 116 geenijaksolla. Molemmista suvuissa on monimutkaisia biopolymeerejä hajottavia lajeja. Runsaslukuisuus korreloi hyvin sen kanssa, että AD-prosessien syötteet sisältävät runsaasti näitä biopolymeerejä, etenkin selluloosaa, jolloin sellolyyttiset bakteerit ovat tärkeässä roolissa prosessin hydrolyysivaiheessa. Proteolyyttisten sukujen *Coprothermobacter* ja *Sedimentibacter* geenijaksoja löytyi 104 ja 103. (Nelson ym. 2010, 3734.)

3.1.4 Bacteroidetes

Nelsonin ym. (2010, 3735) tutkimuksessa n. 30 % *Bacteroidetes*-pääjaksosta oli luokiteltuja. 2 436 geenijaksosta 1 244 oli luokittelemattomia ja 190 *Bacteroidales*-lahkosta. Yleisin luokiteltu oli *Paludibacter*-suku 217 geenijaksolla ja tyypillisesti *Paludibacter propionicigenes*, mesofiilinen, propionaattia ja asetaattia tuottava anaerobi. Toiseksi yleisin oli *Prolixibacter*-suku 162 geenijaksolla, tyypillisesti *Prolixibacter bellariivorans*, sokeria hapoiksi fermentoiva psykrotolerantti. Kolmanneksi laajin oli *Parabacteroides*, sakkarolyyttisesti fermentoiva bakteerisuku, primäärituotteinaan asetaatti ja sukkinaatti. *Proteiniphilum* oli neljänneksi suurin suku ja proteolyyttinen *P. acetatigenes* sen tyypillisin edustaja.

3.1.5 Pienemmät pääjaksot

Jaotelluista 24 pienemmästä pääjaksosta *Synergistetes*-pääjakson osuus oli hie-man yli 6 % kaikista bakteereista ja sen bakteerisuku *Cloacibacillus* oli suurin yksittäinen tunnistettu 511 geenijaksolla. Tyypillinen suvun kanta oli proteolyyttinen anaerobi *Cloacibacillus Evryensis*. *Synergistetes*-pääjaksosta erottui myös *Aminobacterium* 176 geenijaksolla ja muita proteiinia hajottavia bakteereita. *Synergistetes*-bakteereilla on ilmeisesti tärkeä rooli AD-prosessin asidogeenisessä vaiheessa. (Nelson ym. 2010, 3735.)

Toiseksi suurin pääjakso tässä kategoriassa oli *Planctomycetes*. Koska tässä tapauksessa suurin osa geenijaksoista oli kerätty samasta lähteestä, Nelson ym. esittivät tämän enemmistön poissulkemalla ja jäljellä jäävän 27:stä eri lähteestä kerätyn 40 geenijakson perusteella arvion, jonka mukaan *Planctomycetes* esiintyminen tyypillisessä AD-prosessissa olisi satunnaista ja vähäistä. (Nelson ym. 2010, 3735.)

Pääjakso *Actinobacterian* geenijaksoista 26 % liittyi *Propionibacterinae*aan, propionaattia tuottavaan alalahkoon. *Actinobacterian* suurin suku on *Iamia*, tyypillisesti nitraattia pelkistävä *I. majanohamensis*. Sukuun kuuluu myös jätevesi- ja AD-prosesseissa rihmastollaan vaahtoa muodostava *Microthrix parvicella*. (Nelson ym. 2010, 3735–3736.)

3.2 Arkit AD-prosessissa Nelsonin, Morrisonin ja Yun mukaan

Arkit (*Archaea*) luettiin aiemmin bakteereihin, mutta nykyään ne on eriytetty omaksi heimokseen. Arkeilla on sekä prokaryoottisia että eukaryoottisia piirteitä. Metanogeenit eli metanobakteerit kuuluvat arkkeihin.

Metanogeenien substraattivalikoima on pieni ja koostuu lähinnä asetaatista, metyyliiryhmän sisältävistä yhdisteistä, vedystä ja hiilidioksidista. Asidogeenisen vaiheen pääasialliset välituotteet butyraatti ja propionaatti eivät kelpaa sellaisenaan metanogeenille. Syntrofiset asetogeenibakteerit hajottavat nämä välituotteet asetaatiksi.

Metanogeneesissä vaikuttaa kaksi metanogeenien pääryhmää: hydrogenotrofiset ja asetotrofiset (asetoklastiset) metanogeenit. Ensin mainitut käyttävät substraattina vetyä ja jälkimmäiset asetaattia.

Nelsonin ym. (2010, 3737) tutkimuksessa arkkien bakteereita pienempi diversiteetti näkyi paitsi lukumääränä, niin myös suurempana osuutena selvitetystä lajeista, 90 % bakteerien 61 % vastaan.

Nelsonin ym. (2010, 3734) tutkimuksessa 95 % enemmistö kuului pääjaksoon *Euryarchaeota*. 2 869 arkkien geenijaksosta 139 kuului pääjaksoon *Crenarchaeota* ja 22 ei sopinut mihinkään tunnettuun pääjaksoon. *Crenarchaeota* koostui kokonaan *Thermoprotei*-luokasta. *Euryarchaeota* koostui luokista *Methanomicrabilia* 1 590 geenijaksoa, *Methanobacteria* 223 geenijaksoa, *Thermoplasmata* 7 geenijaksoa ja 888 tunnistamatonta.

Obligaatisti asetoklastinen *Methanosaeta* muodosti 55 % enemmistön määritetyistä arkkisuvuista. Formiaattia hyödyntävä, mutta vetyä ja hiilidioksidia suosiva *Methanospirillum* muodosti 10 %, samoin obligaatisti hydrogenotrofinen *Methanobacterium*. Suvut *Methanoculleus*, *Methanolinea* ja *Methanosarcina* edustivat kukin 5 % osuuksia, lisäksi esiintyi pieniä määriä kymmentä muuta sukua. Aiemmissa tutkimuksissa *Methanosaeta* on myös havaittu asetoklastisten metanogeenien vallitsevaksi suvuksi AD-prosesseissa. (Nelson ym. 2010, 3734.)

3.3 Mikrobien sopeutuminen inhiboiviin tekijöihin

Merkittävimpiä inhibitioita AD-prosessissa ovat ammoniakki- ja rikkivetyinhibiitio, joita ei tässä käsitellä, vaikka niillä voikin olla yhteys prosessikemikaaleihin erilaisten mekanismien kautta, (antagonismi, synergismi, akkliimaatio ja

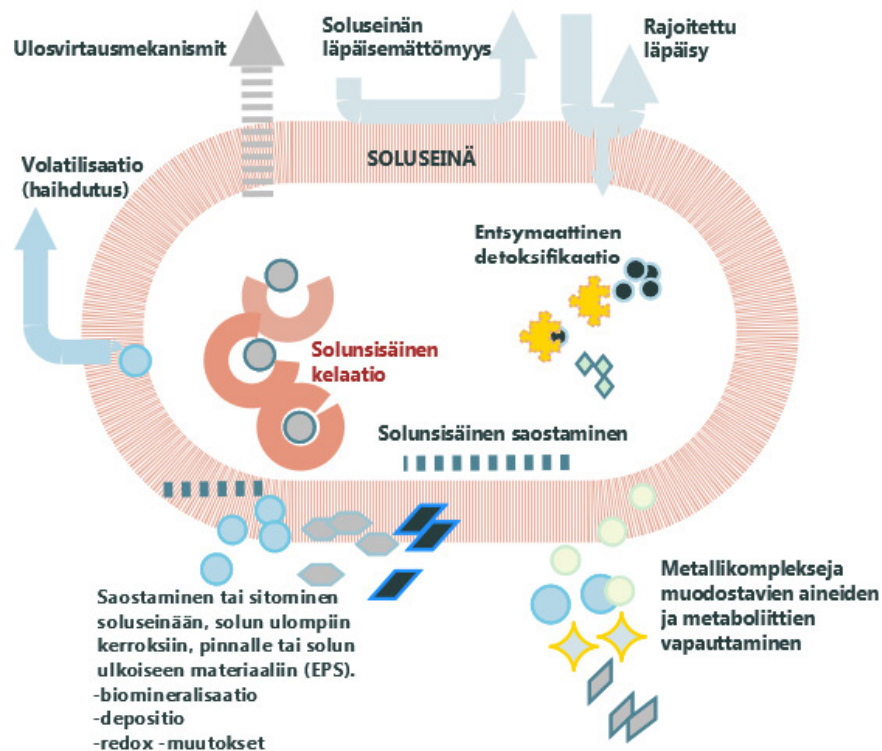
kompleksointi). Kirjallisuudessa eri aineiden AD-prosessia inhiboiva taso vaihtelee, tähän yhtenä syynä ovat inhiboivien aineiden ja prosessilietteen yhdisteiden monet mahdolliset yhdistelmät, jotka vaikeuttavat inhiboivan tekijän erottamista. (Chen ym. 2007, 4044–4052.)

Mikrobit sopeutuvat ajan myötä nouseviin inhiboivien aineiden pitoisuuksiin silloin kun nousu tapahtuu vähitellen. Merkitystä on myös mikrobifloran monimuotoisuudella ja substraatin/ympin sekä sivutuotteiden ja ympin suhteella. Monlau, Sambusiti, Barakat, Quémeneur, Trably, Steyer ja Carrère (2014, 13) vertasivat lignoselluloosan ja leväbiomassan inhibiovaikutusta anaerobisen mädätysprosessin ja pimeäfermentaation välillä. Lignoselluloosan ja leväbiomassan hajotessa syntyvät sivutuotteet, kuten furfuraali, 5-hydroksimetyylifurfuraali ja fenoliset yhdisteet inhiboivat vähemmän anaerobista mädätystä, jossa em. suhteet olivat pimeäfermentaatiota matalampia sekä mikrobifloran monimuotoisuus oli suurempi.

Mikrobeille on kehittynyt erilaisia puolustusmekanismeja haitta-aineita vastaan. Puolustuksena toimivat solun ulkopuolelle eritetyt polymeeriset aineet (EPS), soluseinän ja solukalvon mekanismit sekä solunsisäiset mekanismit. EPS voi muodostua polysakkarideista (EPS_c) tai proteiineista (EPS_p). EPS_c sisältää funktionaalisia asetyyli-, pyruvyli-, sukkinyyli- ja sulfonaattiryhmiä. EPS_p voi korvautua rasvahapoilla muodostaen lipoproteiineja tai glykolysoitua oligosakkarideilla glykoproteiineiksi. (Fang, Xu & Chan. 2002, 4711–4712.)

Biofilmin perusrakenne koostuu EPS:stä. EPS mahdollistaa mikrobien yhteenliittymisen klustereiksi ja kiinnittymisen alustaan biofilminä. Biofilmi estää tai hidastaa toksisten aineiden ja muiden haitallisten ympäristötekijöiden vaikutusta mikrobiin. Niukkaravinteisissa olosuhteissa EPS toimii myös vararavintona. EPS:n tuotanto kiihtyy haitta-aineiden vaikutuksesta, mutta suoraa yhteyttä ei aineen haitallisuuden ja EPS:n tuotantomäärän välillä välttämättä ole. Fangin ym. (2002, 4711–4713) tutkimuksessa kupari Cu(II) (20 mg/l) inhiboi sulfaattia pelkistäviä bakteereja eniten, mutta lisäsi EPS-tuotantoa vähiten. Kontrollinäytteessä sulfaattia pelkistyi 85 % ja kuparille altistetussa vain 5 %. EPS vastaavasti lisääntyi kuparille altistetussa vain n. 6 %. Kromilla Cr(II) (50 mg/l) EPS lisääntyi 100 % ja sulfaatista pelkistyi 38 %.

Mikrobien solunsisäisiä mekanismeja esimerkiksi raskasmetallien haittavaikutuksen ehkäisyyn ovat biologinen saostus ja kelaatio, metylaatio eli metyyli-ryhmien liittäminen tai eksosytoosi, joka yleisemmin on kuona-aineen poistamista solusta. Raskasmetallin tapauksessa eksosytoosi tehdään inaktivoidulle metallille. Kuvassa 2 on erilaisia solun suojautumismekanismeja metallien haittavaikutuksia vastaan. (Gadd 2010, 157.)



Kuva 2. Mikrobisolun suojautumismekanismit metallien haittavaikutuksia vastaan. (Mukailtu lähteestä Gadd 2010.)

Solunulkoisen liuoksen konsentraation kasvaessa sytoplasman konsentraatiota korkeammaksi, eli osmoottisen stressin lisääntyessä, mikrobit voivat reagoida valmistamalla osmolyyttien tavoin toimivia matalan molekyylipainon orgaanisia yhdisteitä ja keräämällä kationeja. Mikrobin on havaittu sopeutuvan esimerkiksi suolastressiin (Na^+) valmistamalla betaiinia tai kumuloimalla K^+ , Mg^{2+} ja Ca^{2+} -kationeja, joilla on antagonistinen vaikutus natriumiin. (Chen ym. 2007, 4051.)

3.4 Inhibition tunnistaminen

AD-prosessin tilan määrittävät monimutkaiset biologiset tapahtumat, joiden valvontaan on olemassa melko pieni valikoima keinoja. Keinot ovat lähinnä kemiallisia mittauksia, yleisimpiä kaasuntuotto, kaasun metaanisisältö, pH, VFA-pitoisuus, alkaliniteetti ja näiden yhdistelmät, kuten keskimääräisen ja osittaisen alkaliniteetin suhde (IA/PA).

Aikaiset varoitusjärjestelmät prosessihäiriöiden varalle ovat AD-prosessissa hyvin tarpeellisia. Kovin moni tähän mennessä kehitetyistä ei ole yleispätevä, koska eri prosessit eroavat olosuhteiltaan ja menetelmä on yleensä kehitetty

spesifisiin olosuhteisiin. Li, He, Wei, He ja Peng (2014, 494) arvioivat eri menetelmiä kolmen ruokajätettä käsittelevän mesofiilisen reaktorin tilan tarkkailuun. Reaktoreiden ympäristö, syötteiden esikäsittely ja viipymäaika erosivat toisistaan. Parhaimmaksi yleispäteväksi valvontamenetelmäksi tutkijat nimesivät yhdistelmän kokonais-VFA – VFA/kokonaisalkaliniteetti TA – bikarbonaattialkaliniteetti BA/TA. Näistä BA/TA ilmaisee prosessin alkaliniteettipuskurin tasapainoa ja VFA/TA happo-emästasapainoa. Li ym. mukaan BA/TA tulisi valita prosessin yleisen tilan valvontaan ja VFA/TA happo-emästasapainon valvontaan varsinkin typpipitoisilla syötteillä keskimääräisen ja osittaisen alkaliniteetin suhteen (IA/PA) sijaan.

Kokonais-VFA:n analysointi on useimmiten riittävä menetelmä prosessin tasapainon valvontaan. Teoreettisesti yksittäisten lyhytkestuisten VFA:n tarkkailu olisi paras aikainen varoitusjärjestelmä, mutta sen toteuttaminen on vaikeaa perinteisin titrausmenetelmin, koska näiden happojen pKa-arvot ovat niin lähellä toisiaan. Sen sijaan kromatografiset menetelmät ovat suositeltavia, koska happojen kiehumispisteet ovat erilaisia. (Madsen, Holm-Nielsen & Esbensen 2011, 3145.)

Online-mittausta hankaloittaa antureihin muodostuva biofilmi ja näytteenottoa heterogeeninen reaktorisäilytys. Konservatiivisissa laitoksissa analyysit tehdään perinteisin titrausmenetelmin ja prosessin tilan arviointi on vahvasti käyttäjän varassa. Prosessin vakaus nojaa usein suurten reaktoritilavuuksien puskuriin. Uusi prosessianalyysitekniikka on tuonut elektrokemialliset ja spektroskopiset kemometriaan yhdistetyt menetelmät järkeviksi ja sopiviksi myös AD-prosessin valvontaan. (Madsen ym. 2011, 3153).

Madsen ym. (2011, 3153) arvioivat painopisteen siirtyvän konservatiivisista laitoksista uutta prosessitekniikkaa käyttäviin automaattisen prosessivalvonnan laitoksiin ja AD-sektorin omaksuvan analyysitekniikkaa elintarvike- ja lääke-teollisuuden fermentointiprosesseista. Pienetkin laitokset (mm. maatilamittakaavan), voivat siirtyä käyttämään valvontajärjestelmiä, jotka ovat edullisempia hankkia ja käyttää ilman jatkuvaa ulkopuolista teknistä tukea.

4 PROSESSIKEMIKAALIT

Seuraavassa on esitelty yleisiä jäteveden käsittelyssä käytettäviä kemikaaleja, jotka käsittelyssä syntyvän lietteen mukana usein siirtyvät AD-prosessin syötteeseen. Suoraan AD-prosessiin lisättävät kemikaalit liittyvät useimmiten pH:n ja alkaliniteetin säätöön eikä niitä käsitellä tässä. Vaahdonestoaineet sen sijaan ovat suoraan AD-prosessiin lisättäviä. Syötteestä riippuen lukuisia muitakin kemikaaleja voi tulla AD-prosessiin, varsinkin kun AD-prosessi on valittu käsittelemään teollisuuden jätevesiä. Tällöin AD-prosessiin tulee mm. erilaisia fenolisia yhdisteitä, halogenoituja alifaattisia yhdisteitä, raskasmetalleja ja nanopartikkeleita.

4.1 Alumiini

Alumiini (Al) on maailman kolmanneksi yleisin alkuaine. Toisin kuin muita yleisiä alkuaineita, eliöt eivät hyödynnä alumiinia metaboliassaan. Mielipiteet alumiinin haitallisuudesta eliöille jakautuvat: toisen katsantokannan mukaan eliöt sietävät hyvin alumiinia, toisaalta alumiinia pidetään eliöille myrkyllisenä. Tutkituimmat vaikutukset ovat kasvien alumiininsieto ja mahdolliset neurotoksiset vaikutukset ihmisillä. Alumiinin ja sen suolojen yhteyttä Alzheimerin tautiin pidetään mahdollisena. (Pina & Cervantes 1996, 312.)

Alumiinin biosaatavuus riippuu pH:sta ja pH:n laskiessa alumiinin, kuten muidenkin metalli-ionien konsentraatio nousee. Asidifikaation haitallisuuden yksi osatekijä on mahdollisesti alumiini-ionien määrän kasvu. (Pina & Cervantes 1996, 312).

Alumiinin käyttö jätevedenpuhdistuksen prosessikemikaaleissa perustuu Al^{3+} -ionien positiiviseen eli kationiseen varaukseen, joka neutraloi kolloidisten partikkelien negatiivisen (anionisen) varauksen. Neutraalit kiintoainehiukkaset eivät enää hylji toisiaan vaan alkavat muodostaa flokkeja yhdessä alumiinihydroksidiksi hydrolysoituneiden Al^{3+} -ionien kanssa.

4.1.1 Alumiinikloridi

Alumiinikloridi (AlCl) on epäorgaaninen ja kationinen alumiinin suola, jota valmistetaan alumiinista ja suolahaposta korkeassa lämpötilassa. Alumiinikloridia käytetään koagulanttina teollisuus- ja yhdyskuntajätevesien puhdistuksessa mm. fosforin saostamisessa, sameuden, kiintoaineen, BOD/COD:n ja TOC:n poistossa sekä lietemäärän vähentämiseksi. Lieke konsentroituu pienempään tilavuuteen sähköstaattisten voimien liittäessä flokkeja ja alumiinisulfaatit ehkäisevät myös jossain määrin rihmastoa muodostavien mikrobien kasvua vähentämällä näiden ravintona käyttämien LCFA:n saatavuutta.

4.1.2 Alumiinikloorihydraatti

Alumiinikloorihydraatti $\text{AlCl}(\text{OH})$ on epäorgaaninen kationinen polymeeri. Se on metallisuoloja tehokkaampi saostusaine, jonka pH-vaikutus on pienempi ja pH-toiminta-alue laajempi. Polymeerirakenteen pitkien molekyyliketjujen ansiosta varaustiheys ja siten teho flokkauksessa on suurempi. Alumiinikloorihydraatin metalli- ja hydroksidisältö ovat myös korkeampia, jolloin sen annostelutarve on pienempi ja emäksisyys suurempi. (Accepta n.d.)

4.1.3 Alumiinisulfaatti

Alumiinisulfaattia ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$) syntyy alumiinihydroksidin ja rikkihapon reaktiossa. Alumiinisulfaatin teho riippuu siinä olevan alumiinin hydrolyysias-

teesta. Suurempi hydrolysoitumisaste kasvattaa molekyylipainoa ja varaustiheyttä. Polymeerien molekyylipainoon ja varaustiheyteen ei kuitenkaan yllätä, joten koagulaatio ei ole yhtä tehokasta. (De Dietrich n.d.)

Alumiinisulfaatti neutraloi kiintoaineen negatiivisen varauksen ja muodostaa helposti eroteltavia flokkeja laskeutus- ja flotaatioprosesseihin. Tehokas pH-alue on melko suppea 6,5–7,5. Alumiinin jäännöspitoisuus jää korkeaksi.

4.1.4 Polyalumiinikloridi

Polyalumiinikloridi (PAC) syntyy alumiinihydroksidin ja suolahapon reaktiossa korkeassa paineessa ja lämpötilassa. PAC:n pH on n. 1,0. Polymeerirakenteen ansiosta sillä on monia etuja esimerkiksi alumiinisulfaattiin verrattuna. PAC toimii nopeammin ja muodostaa suurempia nopeammin laskeutuvia flokkeja. PAC toimii myös alemmissa lämpötiloissa ja laajemmalla pH-alueella (4,5–10,0). Annostelutarve ja alkaliniteetin kulutus ovat pienempiä. Lietettä syntyy vähemmän, kuivattavuus on parempi ja veden jäännösalumiinipitoisuus on pienempi em. alumiinisuoloihin verrattuna. PAC:lla on havaittu lietteen kuivauksessa laitteiston mekaanista rasitusta ja siten tehontarvetta vähentäviä voitelevia ominaisuuksia, jotka johtunevat sen alumiinipolymeereistä ja sitoutuneesta vedestä. (Peeters, Dewil, Vernimmen, Van den Bogaert & Smets 2013, 3600.)

4.2 Rauta

Raudan (Fe) eri muodoilla on monia käyttökohteita AD-prosessissa ja prosessiin tulevan syötteen käsittelyssä, kuten fosforin saostuksessa, hajunhallinnassa ja rikkivedyn synnyn ehkäisyssä. Tavallisimpia ovat rautasuolat eli ferri- ja ferrosulfaatit ja -kloridit.

4.2.1 Ferri- ja ferrosulfaatti

Ferrisulfaatti ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$) on kolmenarvoinen rautasuola, jota käytetään jäteveden ja lietteen käsittelyssä, primaarisaostusaineena ja epäpuhtauksien poistossa. Käyttökohteita on myös rikkivedyn torjunnassa (hajuhaitat, korroosio, biokaasun laatu, AD-prosessin rikkivetyinhibitio), sekä struviitin muodostumisen ehkäisyssä. Ferrosulfaatti (FeSO_4) on rauta(II)sulfaatin kidevedellinen muoto. Veden ja hapen vaikutuksesta kahdenarvoinen (Fe^{2+}) ferrosulfaatti muuttuu kolmenarvoiseksi (Fe^{3+}) ja reagoi fosfaatin kanssa, jolloin fosfori saostuu rautafosfaattina. (Kemira n.d.)

4.2.2 Ferri- ja ferrokloridi

Kolmenarvoiseen rautaan perustuvaa ferrikloridia (FeCl_3) ja kahdenarvoiseen rautaan perustuvaa ferrokloridia (FeCl_2) käytetään fosforinpoistoon ja lisäksi mm. rikkivedyn haittojen ehkäisyyn. (Kemira n.d.)

4.2.3 Ferropersulfaatti

Lietteen kuivaus tehostuu merkittävästi kun EPS ja lieteflokit hajotetaan ja niihin sitoutunut vesi vapautuu. Persulfaattisuolan (esimerkiksi kaliumpersulfaatti $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), hajotessa veden vaikutuksesta ja syntyneen anionin reagoidessa Fe(II) -raudan kanssa syntyy voimakas sulfaattiradikaali, joka hajottaa EPS:ää tehokkaasti. Ferropersulfaatin käyttö, eli Fe(II) -välitteinen persulfaattioksidatio on uudehko menetelmä lietteen kuivaustuloksen parantamiseen. (Zhen, Lu, Niu, Su, Chai, Zhao, Li, Song & Niu. 2013, 274.)

4.2.4 Nollavalenssirauta

ZVI eli Fe^0 (Zero Valence Iron) on ollut käytössä pari vuosikymmentä pilaantuneiden pohjavesien puhdistuksessa ja sovellukset jäteveden puhdistukseen ovat lisääntymässä. ZVI:tä on kokeiltu mm. atsovärijätevesiä käsittelevän UASB-reaktorin toiminnan tehostajana hyvin tuloksin. Nanohiukkaskoon myötä suuremman tehollisen pinta-alan omaavan nZVI:n käyttö on lisääntynyt ympäristön puhdistuksessa ja teollisessa jätevedenkäsittelyssä erityisesti kloori- ja nitroaromaattisten yhdisteiden sekä raskasmetallien poistossa. Biologisten lietteiden hajunhallinta nZVI:n avulla nähdään lupaavana käyttökohteena, koska rautaionit muodostavat pahanhajuisten rikkiyhdisteiden kanssa vakaita komplekseja. (Yang, Guo & Hu 2013, 6790.)

Liitteessä 2 on lisätietoa epäorgaanisista flokkulanteista ja koagulanteista.

4.3 Polymeerit

Polymeerit ovat toistuvista monomeeriyksiköistä koostuvia yhdisteitä. Prosesseissa käytettävät polymeerit ovat vesiliukoisia ja enimmäkseen synteettisiä. Positiivisesti varautuneet polymeerit ovat kationisia, negatiivisesti varautuneet anionisia ja varauksettomat nonionisia. Ioniset polymeerit ovat polyelektrolyyttejä. (Bolto & Gregory 2007, 2303.)

Polymeerien tärkeimmät määrittävät tekijät ovat molekyylipaino ja varsinkin polyelektrolyyteillä varaustiheys. Molekyylipainon mukaan voidaan luokitella mm. painokeskimääräisesti seuraavasti: $< 10^5$ pieni, 10^5 – 10^6 keskitaso ja $> 10^6$ suuri painokeskimääräinen molekyylipaino. AD-prosessien syötteissä olevat polymeerit ovat vesiliukoisia ja muuntuvat vedessä satunnaiseen silmukamuotoon. Silmukan läpimitta ilmaistaan neliöllisenä keskiarvona silmukan päiden etäisyydestä. Polyelektrolyyteillä silmukan segmentit ovat varauksellisia ja

silmukka voi siten kiertyä auki kuroutuneesta tilastaan samanmerkkisten varausten työntövoimasta. Aukeaminen on voimakkaampaa jos ympäröivän liuoksen ionitiheys on pieni ja päinvastoin. Taulukossa 1 on kationisten polyelektrolyyttien varaustiheyksiä. (Bolto & Gregory 2007, 2306.)

Taulukko 1. Polyelektrolyyttien varaustiheyksiä PDADMAC: Polydiallyldimethyl Ammonium Chloride, ECH/DMA: Epichlorohydrin/dimethylamine, CPAM: Cationic Polyacrylamide. (Muokattu lähteestä Bolton & Gregoryn 2007.)

Polyelektrolyytti	Varaustiheys mol%	Varaustih. meq/g
PDADMAC	100	6,2
ECH/DMA	100	7,3
CPAM	100	5,2
CPAM	50	3,8
CPAM	25	2,5
CPAM	10	1,2
Kitosaani	100	5,2

Anionisten ja nonionisten polymeerien myrkyllisyys on vähäistä. Kationiset polymeerit ovat varsinkin vesieliöille myrkyllisempiä. Kationiset polymeerit mm. tukkivat mekaanisesti kalojen kiduksia. Kiintoainepartikkelit (esimerkiksi savi), ja humushappo poistavat kationisten polymeerien haittoja vähentämällä biosaataavuutta. Anionisten polymeerien haitallisuus, joka näkyy mm. ravinne-metallikationien kelaationa, voidaan kompensoida Ca^{++} - lisäyksellä. (Bolton & Gregory 2007, 2317.)

Useat synteettiset polymeerirakenteet ovat vaikeasti biohajoavia. Amidiryhmät ja esterisidokset ovat kohtia, joista hidas hajoaminen alkaa. Polysakkarideihin ja proteiineihin perustuvat luonnolliset polymeerit hajoavat helposti amidi- ja eetteriryhmistä. (Bolton & Gregory 2007, 2317.)

Polymeerejä käytetään usein yhdessä metallisuolojen kanssa. Koagulointi ja flokkulaatio pelkästään polymeereillä on harvinaista. Primaarikoagulantteina voidaan käyttää korkean varaustiheyden polyelektrolyyttejä kuten PDADMAC (Polydiallyldimethyl Ammonium Chloride). Orgaaniset polymeerit toimivat usein apuaineina yhdistämässä metallisuoloilla koaguloituneita partikkeleita suuremmiksi flokeiksi. (Bolton & Gregory 2007, 2312.)

Lisäksi on olemassa suuri joukko ns. kopolymeerejä, liitettyjä polymeerejä, joissa esimerkiksi polysakkaridiin on liitetty synteettinen polymeeriosa (Liite 3).

4.3.1 Polyakryyliamidi PAM

Polyakryyliamidi on yleisnimitys useille polymeereille, joiden runkona on akryyliamidi. PAM on kationinen, anioninen tai nonioninen flokkulantti, jonka molekyylipaino (3–20 g/mol) ja varaustiheys vaihtelevat. Valmistus tapahtuu usein polymeroimalla akryyliamidin monomeerejä yhdellä tai useammalla ko-

polymeerillä. Akryyliamidilla on neurotoksinen vaikutus, joten PAM:n depolymerisaatio akryyliamidiksi on haitallista. (Haveroen, McKinnon & Fedorak 2005, 3333.)

Polyakryyliamidin mikrobiologista hajotusta vaikeuttaa suuri molekyylipaino, jolloin kuljetus mikrobisolun sisään ei onnistu. Hajotus on mahdollista solunulkoisilla entsyymeillä. Jotkin aerobiset mikrobit tuottavat amidaasi-entsyymejä, jotka hajottavat amidia ammoniakiksi ja solut voivat näin käyttää polyakryyliamidia typenlähteenä. (Haveroen ym. 2005, 3334.)

Anaerobisissa olosuhteissa on havaittu sekä kationisen (Chang, Raudenbush & Dentel 2001, 461–468) että anionisen (Haveroen ym. 2005, 3339) polyakryyliamidin stimuloivan metaanintuottoa, kun polymeeri toimii pääasiallisena typenlähteenä. Changin ym. kokeessa parantunut metaanintuotto oli todennäköisesti peräisin syötteen ammoniumsuoloista, jotka edistivät polymeerin kationisen osan fermentointia trimetyyliaminoetanolista metaaniksi. Haveroenin ym. (2005, 3339) kokeessa taas PAM toimi typenlähteenä kun substraatti sisälsi riittävästi fermentoitavaa hiiltä mutta niukasti typpeä. PAM:n sisältämällä hiilellä ei havaittu olevan osuutta lisääntyneeseen metaanintuottoon eikä mikrobien kykyä hajottaa PAM:in hiilirunkoa metaaniksi fermentoituvaan muotoon pidetty todennäköisenä.

4.3.2 Biopolymeerit

Useat biopolymeerit ovat ionisia polyelektrolyyttejä tai ne voidaan modifioida kationisiksi, anionisiksi ja nonionisiksi. Näistä merkittävin kationinen polyelektrolyytti on kitosaani, osittain deasetyloitu kitiini, jonka molekyylipaino on keskitasoa ja varaustiheys pH:sta riippuva. Kitiiniä esiintyy luonnossa runsaasti ja se on esimerkiksi äyriäisten kuoren päärakennusaine. Kitosaani on tehokas orgaanisen aineen poistaja, vaikka sen varaustiheys neutraalissa pH:ssa on matala, n. 17 %. (Bolto & Gregory 2007, 2305.)

Polysakkarideista muunnetut polyelektrolyytit kestävät paremmin leikkausvoimia kuin pitkäketjuiset polyakryyliamidit. Ne ovat myös biohajoavia. Tehokkuus on kuitenkin matalampi, jolloin annostus on oltava suurempi. Tärkkelys voidaan muuntaa kationiseksi polyelektrolyytiksi käsittelemällä primaarista OH-ryhmää niin, että kationinen osa liittyy polymeeriketjuun eetterilinkillä. Molekyylipaino on keskitasoa ja varaustiheys matala tai keskisuuri. (Bolto & Gregory 2007, 2306.)

Synteettisten polymeerien liittäminen amylopektiiniin, guarkumiin ja tärkkelykseen on tuottanut tehokkaita kationisia polyelektrolyyttejä, jotka ovat hyvin haarautuneita ja varsinkin amylopektiinin kohdalla molekyylipainoltaan suuria. Samoin polysakkaridi glykokeenistä on tehty tehokas polyelektrolyytti, jonka molekyylipaino on hyvin suuri, käsittelemällä OH-ryhmää N-(3-kloori-2-hydroksipropyli)-trimetyyliammoniumkloridilla. (Bolto & Gregory 2007, 2306.)

Anionisia biopolymeerejä ovat monet sulfatoidut polysakkaridit. Jätevedenpuhdistuksessa käytettävät polymeerit perustuvat mm. ligniinisulfonaattiin ja tanniiniin. Nonionisina flokkulantteina käytettäviä ovat polysakkaridit kuten galaktomannaani, selluloosajohdannaiset ja gelatiini. Niiden etuina on helppo biohajoavuus ja vaarattomuus. (Bolto & Gregory 2007, 2306.)

Tanniini on yleisnimitys suurikokoisille vesiliukoisille polyfenolisille yhdisteille, joita saadaan luonnonmateriaaleista, mm. *Acacia*-, *Castanea*- ja *Schinopsis*-puiden kuoresta ja puuosasta. Tanniini sisältää fenolisia ryhmiä ja on siten luonteeltaan anioninen. Fenoliryhmät deprotonoituvat jolloin elektronitiheys kasvaa. Fenoliryhmien lukumäärän kasvaessa myös teho koagulanttina kasvaa, Yin C-Y. (2010, 1439). Tanniinissa voi olla myös yksittäisiä monomeerikohtaisia amiiniryhmiä niin että varaus on kationinen, tai kationisuus voidaan tuottaa modifioimalla tanniinin rakennetta. Tanniini voi olla myös amfoteerinen eli se on kationinen matalassa pH:ssa ja anioninen korkeassa pH:ssa. (Graham, Gang, Fowler & Watts 2007, 9.)

Tanniineja käytetään flokkulaatiossa yleensä geelimuodossa tai kationiseksi modifioituina. Geelimuodossa tanniini on immobilisoitu matriisiin niin että sen metalleja kelatoivat ominaisuudet säilyvät. Kationisuus luodaan yleensä Mannich-reaktion avulla lisäämällä kvaternääristä tyyppiä tanniinin rakenteeseen. Tanniini saa amfolyyttisiä ominaisuuksia kationisista amiiniryhmistä ja anionisista fenoliryhmistä. (Beltrán-Heredia, Sánchez-Martín & Dávila-Acedo 2010, 1704–1705.)

Liitteessä 4 on biopolymeerien eräitä ominaisuuksia.

4.4 Vaahdonestoaineet

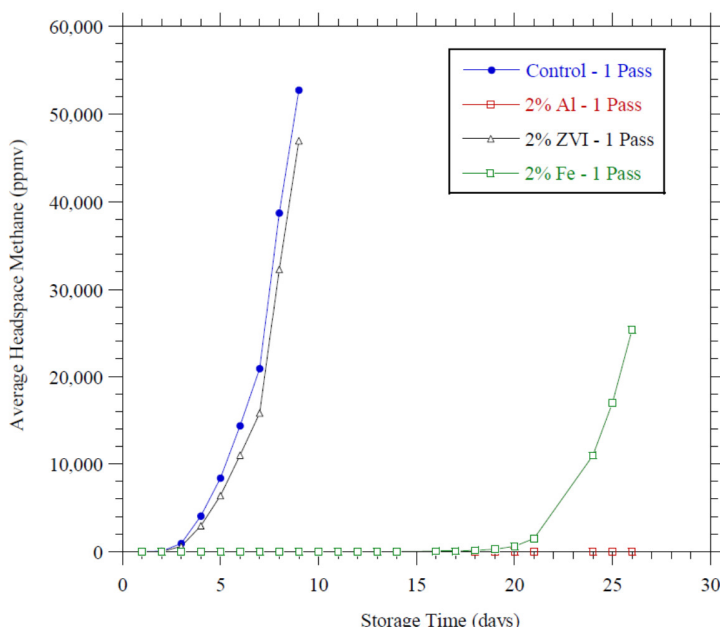
Vaahdonmuodostus on AD-prosessin ongelmana vakava ja myös yleinen. Vaahdonmuodostus on monimutkainen tapahtuma johon vaikuttavat monet tekijät. Joidenkin tekijöiden kohdalla ei ole varmuutta onko kyse syystä vai seurauksesta. Näin on esimerkiksi VFA konsentraation nousun suhteen. Joitakin yhteyksiä syötteen ja vaahdonmuodostuksen välillä on kuitenkin varmistettu. Vaahdonmuodostusta lisäävät lipidit, proteiinit, pinta-aktiiviset aineet (VFA:t pinta-aktiivisia), liuottimet ja typpipitoinen syöte. Aktiivilietteen ongelmana on rihmastoa muodostavien *Microthrix parvicellan* ja *Nocardia spp.* kumuloituminen AD-prosessiin ja siitä seuraava vaahdonmuodostus. (Moeller, Goersch, Neuhaus, Zehnsdorf & Mueller 2012, 2.)

Vaahtoa torjutaan vaahdonestoaineilla. Vaahdonestoaineen pintajännitys on matala, jolloin aine leviää kaasukuplia erottavaan kalvoon ja tuhoaa sen korvaamalla kalvoa stabiloivat aineet muilla aineilla. Estoaaineina käytetään mm. kasviöljyjä, jotka ovat biohajoavia ja edullisia. Lukuisista muista kemikaaleista esimerkkinä mainittakoon rasvahapot, tributyylifosfaatti ja siloksaanit joiden käyttöä AD-prosessissa ei suositella (Moeller ym. 2012, 5). Vaahdonestoaineet

jaotellaan sen mukaan lisätäänkö kemikaali vaahdon muodostumisen estämiseksi (antifoaming agent) vai muodostuneen vaahdon poistamiseksi (defoamer). Käytettävät kemikaalit ovat kuitenkin perustaltaan samoja. (Kougias, Boe, Tsapekos & Angelidaki, 2013, 199.)

5 PROSESSIKEMIKAALIEN VAIKUTUKSIA AD-PROSESSISSA

Esimerkiksi jäteveden käsittelyssä käytettyjen alumiini- ja rautasuolojen on osoitettu vähentävän monien biomolekyylien biosaatavuutta. Tämä tulee esiin mm. kun jäteveden puhdistuksessa syntyvää lietettä käsitellään mädättämällä. Higgins (2010, 48) tutki metallisuolojen käyttöä haihtuvien orgaanisten rikkiyhdisteiden synnyn ehkäisyssä. Samalla todettiin että alumiini ja rauta vaikuttivat metaaninmuodostusta vähentävästi, (Kuvio 1, s. 22).



Kuvio 1. Alumiinin, raudan ja ZVI:n (nollavalenssirauta) vaikutus metaanin muodostumiseen. Raudan inhiboiva vaikutus kesti 20 vrk, alumiinin inhibiatio oli pysyvää tarkasteluvälillä (Higgins 2010).

5.1 Alumiini

Kun alumiinipitoisuus ylittää 2,5 g/l alkaa VFA-pitoisuus nousta, alkaliniteetti ja sen myötä pH laskea, mutta Chenin ym. (2007, 4050) mukaan totuttautumisvaiheen jälkeen anaerobit voivat sopeutua tähän pitoisuuteen. Alumiiniperäistä inhibiatiovaikutusta on havaittu asetogeeneillä ja metanogeeneillä. Vaikutusta on selitetty alumiinin sitoutumisella DNA:han, kilpailulla magnesiumin ja raudan kanssa tai alumiinin kiinnittymisellä soluseinään ja siitä seuraavasta soluseinän heikentyneestä läpäisystä ja mikrobin kasvun hidastumisesta. Cabirolin,

Barraganin, Duranin ja Noyolan (2003, 239) mukaan 1 g/l vaikuttaa asetogeeneihin ja metanogeeneihin. 59 vuorokautta kestäneen $\text{Al}(\text{OH})_3$ altistuksen aikana asetogeenien aktiivisuus laski 72 % ja metanogeenien 50 %.

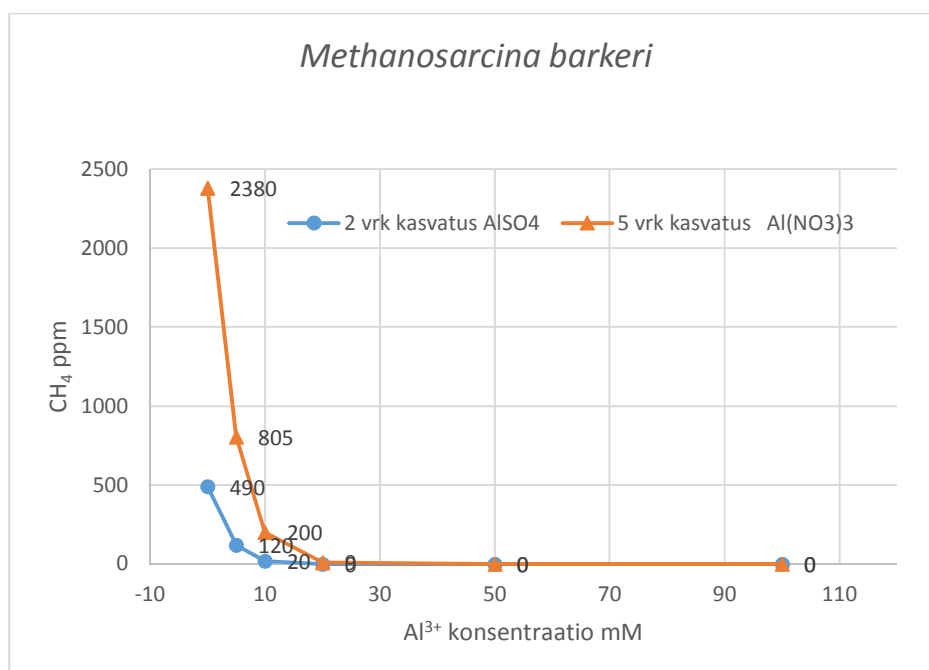
DNA:han sitoutumisen lisäksi alumiini muodostaa komplekseja ATP:n ja fosfaattien kanssa aiheuttaen fosfaattipuutosta, inaktivoi entsyymejä ja laskee pH:ta sekä häiritsee osmoosiregulaatiota. (Yaganza, Rioux, Simard, Arul & Tweddell 2004, 6800.)

Liukoinen Al^{3+} on yleensä soluille haitallisempi muoto kuin sen muodostamat kompleksit. Alumiini esiintyy vapaina ioneina pH-alueella 2,0–4,0 mutta pH-alueella 4,0–7,0 yleensä kationeina, kuten Al^{3+} , $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ ja $\text{Al}_2(\text{OH})_2^{4+}$. pH 7,0 yläpuolella alumiini esiintyy anioneina ja pH 9,0 yläpuolella hydrolysoituu muotoon AlO_2^- . (Ruan & Li 2012, 919.)

Al^{3+} :n on huomattu kerääntyvän eri konsentraatioina solun EPS:ään. Solun ulompaan EPS-kerrokseen, LB-EPS:ään, (Loosely Bound EPS) on raportoitu sitoutuneen 0,03 mg/L Al^{3+} kun sisempään TB-EPS:ään (Tightly Bound EPS) oli sitoutunut 4,99 mg/L. TB-EPS:ään oli sitoutunut kaikkiaan 97,5 % aktiivilietteen koko Al^{3+} :sta. (Ruan & Li 2012, 916.)

Mikrobit reagoivat haitallisiin aineisiin kiihdyttämällä EPS:n tuotantoa. Fang ym. (2002, 4713) tutkivat metallien vaikutusta EPS:n tuotantoon. Kun kontrolialustalla EPS:n määrä oli 40,1 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$, oli alumiinille ($\text{Al}(\text{III})$ 27 mg/l) altistetulla alustalla määrä 74,8 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$.

Chattopadhyay ja Thakur (2002, 916) tutkivat Al^{3+} vaikutusta *Methanosarcina barkeri* metaanituottoon ja etenkin Al^{3+} vaikutusta kofaktori F420:aan, joka on yleinen elektroninsiirtäjä metanogeenieilla. Al^{3+} inhiboi metaanituoton pitoisuudella 20 mM kokonaan, (Kuvio 2, s.23). Al^{3+} arvioitiin kiinnittyvän F420:n kromoforiseen rengasrakenteeseen ja estävän energian siirtoa.



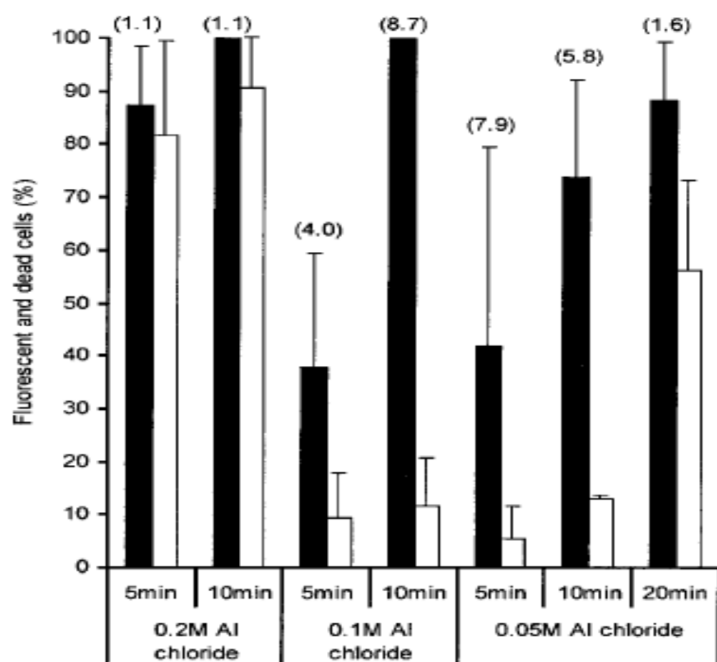
Kuvio 2. Alumiinin vaikutus *Methanosarcina barkeri* metaanituottoon. (Mukailtu lähteestä Chattopadhyay & Thakur 2002.)

5.1.1 Alumiinikloridi

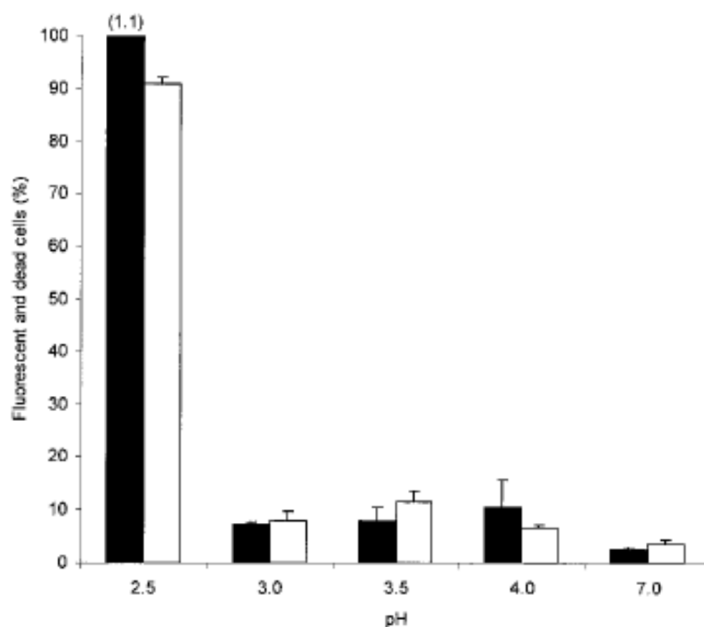
Yaganza ym. (2004, 6800) tutkivat alumiinikloridin ja natriummetabisulfiitin vaikutusta enterobakteereihin kuuluvaan *Erwinia carotovora*. *Erwinia carotovora* aiheuttaa satovahinkoja perunaviljelyksillä ja sitä torjutaan alumiini- ja bisulfiittisuoloilla.

Bakteereita altistettiin 0,1 ja 0,2 M alumiinikloridikonsentraatiolle lyhytaikaisesti (5 ja 10 min.), ja 0,05 M konsentraatiolle pitempiaikaisesti, korkeintaan 20 min, (Kuvio 3, s. 24). Koska alumiinikloridi laskee pH:ta, bakteereja altistettiin myös pelkälle pH:n laskulle (Kuvio 4, s. 24) pH-vaikutuksen erottamiseksi alumiinikloridin vaikutuksesta. Soluvauriot ilmaistiin SYTOX Green -menetelmällä, jossa positiivisesti varautunut merkintäaine läpäisee vain vioittuneita solukalvoja ja kiinnittyy nukleiinihappoihin synnyttäen fluoresenssin. (Yaganza ym. 2004, 6801.)

Kuviossa 3 ja kuviossa 4 (s. 24) näkyy, että kun alumiinikloridipitoisuus oli 0,2 M ja pH 2,5, niin solujen kuolleisuus ja merkkiaineen kulkeutuminen solun sisään olivat lähes tasoissa (suhde 1,1), kun taas matalammilla alumiinikloridipitoisuuksilla kuolleisuus oli suurempi kuin merkkiaineen kulkeutuminen (suhde 1,6–8,7). Soluseinän vaurioituminen on ollut tällöin todennäköisesti lievempää niin että merkkiaine ei ole läpäissyt soluseinää, kun taas sytoplasman kasautumista aiheuttavat alumiini-ionit ovat. (Yaganza ym. 2004, 6806.)



Kuvio 3. Kuolleiden ■ ja fluoresoivien (vaurioituneiden) solujen □ %-osuudet alumiinikloridialtistuksessa. Luvut sulkeissa pylväiden päässä kuvaavat kuolleiden ja fluoresoivien solumäärien suhdetta (Yaganza ym. 2004).



Kuvio 4. Alentuneen pH:n vaikutuksesta kuolleiden ■ ja fluoresoivien (vaurioituneiden) solujen □ %-osuudet (Yaganza ym. 2004).

Alumiinikloridi 0,05, 0,1 ja 0,2 M:n pitoisuuksina aiheutti bakteerien soluseinän rakenteen löystymistä (näkyä elektronitiheyden laskuna), sekä vaurioita

soluseinään. Matalimmallakin 0,05 M pitoisuudella 20 minuutin käsittelyaika nosti kuolleisuuden 88 %:iin. Bakteerisoluihin muodostui tyhjiä alueita soluliiman kasautuessa ja solunulkoiset vesikkelit tuhoutuivat. Näitä vaikutuksia ei havaittu pH:ta alentamalla. Vasta pH 2,5 aiheutti lievää plasmolyysia ja sytoplasman kasautumista. Plasmolyysi ja sytoplasman kasautuminen alumiinikloridin vaikutuksesta oli selvästi suurempaa. (Yaganza ym. 2004, 6806.)

5.1.2 Alumiinisulfaatti

Cabirol ym. (2003, 237) tutkivat alumiinisulfaatin vaikutusta siten, että kokeiltiin erikseen alumiinin, sulfaatin ja alumiinisulfaatin vaikutusta SMA:han (Specific Methanogenic Activity) glukoosisubstraattilla. Yhden näytteen substraatti oli alumiinisulfaattilla ja anioinisella polymeerilla käsitelty primaariliete EPT. Ympin SMA oli 0.44 g CH₄-COD/gVS/vrk. SMA määritettiin 59 ja 114 vuorokauden kuluttua aloituksesta seuraavien suhteen: etikkahappo, (asetoklastiset metanogeenit), butyyri- ja propionihappo, (asetogeeniset bakteerit) ja vety, (hydrogenotrofiset metanogeenit). Taulukossa 2 (s.26) on SMA:n vähenemä eri näytteissä. Kokeen aikana pH oli 7,8.

Taulukko 2. SMA vähenemä. C: kontrollinäyte, A: Alumiini 1,0 g Al(OH)₃/L S: K₂SO₄ sulfaatti 150 mg SO₄²⁻/L, S+A: A ja S seoksena, EPT: primaariliete (Cabirol ym. 2003).

SMA (gCH ₄ -COD/gVSS.d)	Assay	59 days	SMA decrease (%)	114 days	SMA decrease (%)
Acetic acid	C	0.2817 ^a ± 0.020	0	0.2289 ^a ± 0.008	0
	A	0.1407 ^b ± 0.070	50	0.2014 ^b ± 0.030	12
	S	0.1456 ^b ± 0.030	48	0.2148 ^b ± 0.020	6
	S+A	0.0839 ^c ± 0.008	70	0.2090 ^b ± 0.030	9
	EPT	0.1182 ^b ± 0.040	58	0.0686 ^c ± 0.010	70
Propionic acid	C	0.4861 ^a ± 0.030	0	0.2206 ^a ± 0.010	0
	A	0.1662 ^b ± 0.006	66	0.1712 ^b ± 0.020	22
	S	0.2142 ^c ± 0.030	56	0.1869 ^b ± 0.010	15
	S+A	0.2384 ^c ± 0.003	51	0.1674 ^b ± 0.050	24
	EPT	0.1347 ^d ± 0.020	72	0.0522 ^c ± 0.009	76
Butyric acid	C	0.7533 ^a ± 0.050	0	0.2140 ^a ± 0.030	0
	A	0.2109 ^b ± 0.010	72	0.1698 ^b ± 0.030	21
	S	0.2650 ^c ± 0.030	65	0.1975 ^b ± 0.020	8
	S+A	0.2139 ^b ± 0.040	72	0.1359 ^c ± 0.006	36
	EPT	0.1864 ^b ± 0.060	75	0.0686 ^d ± 0.009	68
Hydrogen	C	0.4190 ^a ± 0.040	0	0.2506 ^a ± 0.020	0
	A	0.1694 ^b ± 0.007	60	0.2643 ^a ± 0.050	-5
	S	0.2138 ^b ± 0.060	49	0.2166 ^b ± 0.040	14
	S+A	0.1420 ^c ± 0.010	66	0.1420 ^c ± 0.010	44
	EPT	0.1499 ^c ± 0.020	66	0.1257 ^c ± 0.050	50

EPT:n kohdalla huomionarvoista on että kun 114 vrk kohdalla inhibitio muissa näytteissä (A, S, S+A) laski voimakkaasti, EPT:llä inhibitio laski vähemmän tai jopa lisääntyi (etikka- ja propionihappo). Mikrobin sopeutuminen EPT:hen

oli siis vähäisempää. Alumiinin ja sulfaatin yhteisvaikutus S+A oli hieman voimakkaampi kuin niiden vaikutus erikseen. EPT:n voimakkaamman inhibition syynä olivat alumiinin ja sulfaatin yhteisvaikutuksen lisäksi todennäköisesti myös muut EPT:n lukuisista komponenteista. (Cabirol ym. 2003, 237.)

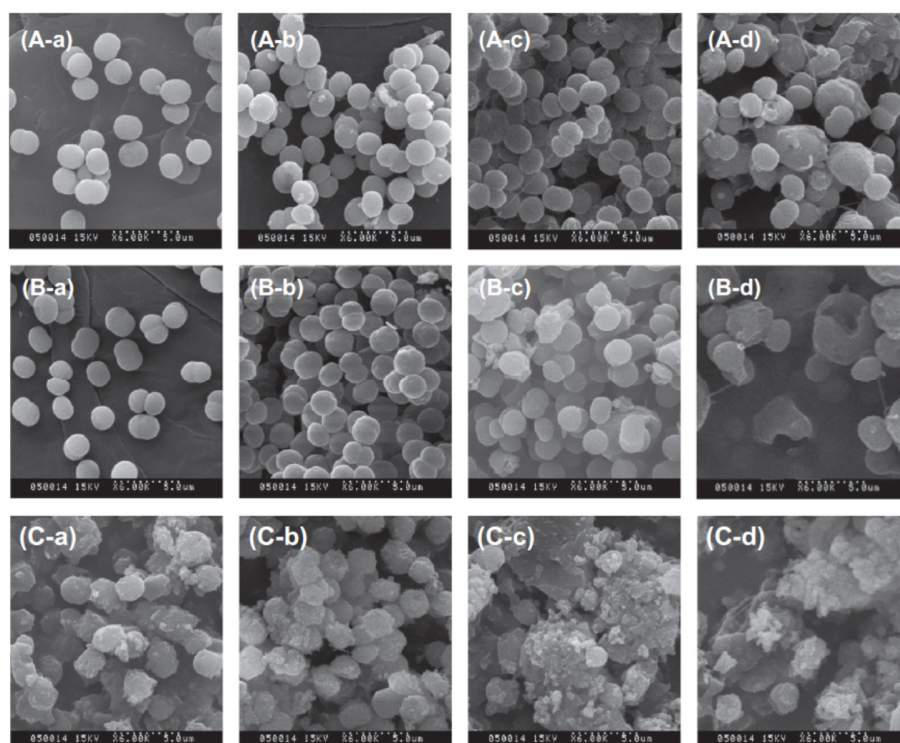
Hydrogenotrofiset metanogeenit ja asetogeenit näyttivät sopeutuvan ajan suhteen huonommin S+A yhteisvaikutukseen kuin asetoklastiset metanogeenit. Alumiinin ja EPT:n inhibitioon parhaiten sopeutuivat hydrogenotrofiset metanogeenit, jotka toisaalta sopeutuivat huonoimmin S+A yhteisvaikutukseen. Alumiini 1,0 g/l näytti inhiboivan voimakkaammin asetogeneejä. (Cabirol ym. 2003.)

5.1.3 Polyalumiinikloridi

Polyalumiinikloridi PAC ei yleensä inhiboi AD-prosessia. Jos prosessissa on paljon vapaita mikrobeja, joiden kiinnittymiskyky flokkeihin on heikko, nämä mikrobit ovat muita alttiimpia huuhtoutumaan ulos. Näin voi olla varsinkin termofiilisissä prosesseissa, joiden mikrobidiversiteetti on mesofiilistä pienempi. Tällöin PAC:n kaltaisen kationisen flokkulantin positiivinen varaus voi auttaa mikrobeja kiinnittymään flokkeihin ja pysymään prosessissa. Suvilampi, Lehtomäki ja Rintala (2005, 741) tutkivat voimakkaasti kationisen PAC:n vaikutusta laboratoriomittakaavan mesofiiliseen ja termofiiliseen aktiivilieteprosessiin. Tässä tutkimuksessa PAC ei kuitenkaan sanottavasti parantanut termofiilisen prosessin heikompaa flokkautumista eikä vapaiden mikrobien kiinnittymistä. PAC lisäsi lietemäärää, kun taas mesofiilisessä prosessissa PAC hillitsi rihmastoa muodostavien mikrobien toimintaa ja lietemäärä väheni.

Rodríguez, Kennedy, Diepeveen, Prummel ja Schippers (2007, 305) tutkivat PAC-annoksen vaikutusta RO-vedensuodatukseen tulevan raakaveden käsitelyssä. Tutkijoiden mukaan suuri PAC-annos aiheuttaa alumiinikarstan kertymistä, kun konsentraatio ylittää liukoisuuden. Voidaan olettaa että suuri PAC-annos voi tuoda esiin samanlaisia haittoja AD-prosessissa, kuin on edellä kuvattu alumiinista yleensä.

Leväkukintojen vaivaamien vesien puhdistuksessa on riskinä leväsolujen vaurioituminen ja seurauksena levämyrkköjen vapautuminen veteen. PAC kiihdytti *Microcystis aeruginosa*-syanobakteerisolujen hajoamista ja mikrokystiinin vapautumista veteen. Hajoaminen ei tapahtunut flokkauksen aikana, vaan vasta PAC-käsittelyn jälkeisessä näytteen varastoinnissa sen jälkeen, kun syanobakteereja suojannut EPS oli hajonnut (Kuva 3, s. 27). Sekoitus kiihdytti hajoamisprosessia hieman. (Sun, Pei, Hua, Li, Maa & Pei 2013, 127.)



Kuva 3. PAC vaikutus *Microcystis aeruginosa*-soluihin. A: Näyte ilman PAC:tä ja sekoitusta, B: Näyte sekoitettuna ilman PAC:tä, C: PAC-käsitelty ja sekoitettu näyte. a: 0 vrk, b: 2 vrk, c: 4 vrk d: 6vrk (Sun ym. 2013).

5.2 Rauta

Esiintymismuodosta riippuen rauta voi edistää tai estää metanogeneesiä. Inhibitiioon liittyy usein suuri annos ja vaikutusmekanismit ovat samankaltaisia kuin alumiinilla. Inhiboidessaan rauta voi tehdä AD-prosessin syöttestä hitaammin hajoavaa ja vähentää orgaanisen aineksen saatavuutta mutta toisaalta myös edistää hajoavuutta ja biosaatavuutta.

Fe^0 :n on havaittu lisäävän yksinkertaisten ja liukoisten aineiden hajoamista anaerobisissa oloissa ja vähentävän ORP:tä, mikä luo suotuisimmat olosuhteet anaerobisille mikrobeille. Fe^0 lisää hydrolyysiin ja asidogeneesiin liittyvien entsyymien aktiivisuutta ja hyödyttää siten näitä ja seuraavia vaiheita. Liu, Zhang, Quan, Li, Zhao, Meng ja Chen (2012, 179) syöttivät tutkimuksessaan Fe^0 -rautajauhetta asidogeeniseen reaktoriin, jonka poiste syötettiin metanogeeniseen reaktoriin.

Fe^0 -lisäys sai aikaan runsaamman asidogeenien ja erityisesti asetogeenien määrän ilman lisäystä toimineeseen vertailureaktoriin nähden. Propionaattia muodostui vähemmän ja asetaattia sekä butyraattia vastaavasti enemmän kuin vertailureaktorissa. Fe^0 -reaktori oli myös tunteettomampi HRT:n laskulle, jolloin kaksivaiheisen mädätyksen asidogeenistä vaihetta voitiin tehostaa laskemalla

HRT:tä metanogeenien poistamiseksi tästä vaiheesta. Kokonaisuudessaan anaerobinen fermentaatio tehostui, mikä hyödytti seuraavia vaiheita metanogeenisessä reaktorissa. (Liu ym. 2012, 184.)

Zhang, Feng, Yu, Xu ja Quan (2014, 297) vertailivat Fe^0 -rautajauheen sekä puhtaan ja ruosteisen romuraudan vaikutusta anaerobiseen hajoamiseen. Rautajauhe lisäsi metaanituottoa 14,46 %, puhdas romurauta 21,28 % ja ruosteinen 29,51 %.

Zhang ym. (2014, 297) esittivät romuraudan paremmuuden Fe^0 -jauheeseen nähden johtuvan paremmasta massansiirrosta. Tutkimuksessa parhaimman tuoton antaneen ruosteisen romuraudan pinnan Fe^{3+} -oksidikerros kiihdytti rautaa pelkistävien mikrobien toimintaa, joka puolestaan edisti monimutkaisten yhdisteiden hajoamista ja siten kaikkia anaerobisen prosessin vaiheita.

Raudalla on havaittu myös inhibitiota metanogeenien ja sulfaatinpelkistäjien toimintaan anaerobisissa biofilmeissä. Zhang, Keller ja Yuan (2009, 4123) tutkivat kahta laboratoriomittakaavan viemärisysteemiä, joista toiseen annosteltiin Fe^{3+} ferristä rautaa. Kumpaankin viemäriin pumpattiin jätevettä niin että HRT oli keskimäärin 3 h, (min. 1 h, max 9 h). Jäteveden sulfaattipitoisuus oli 10–25 mg/l, VFA 50–100 mg COD/l ja sulfidi < 3 mg/l.

Fe^{3+} -lisäys vähensi sulfaatin pelkistystä 39–60 % ja metaanintuottoa 52–80 % tutkimusviemäriin anaerobisissa biofilmeissä, (Zhang ym. 2009, 4131). Vaikutusmekanismin arveltiin olevan solujen metabolian hidastaminen mm. proteiinien denaturoinnin, entsyymien inaktivoinnin ja tärkeistä kationeista syntyvän kilpailun takia. Azam ja Finneman (2012, 1435) tutkivat Fe^{3+} vaikutuksia kiinteistökohtaisten jätevesitankkien hiilen mineralisaatioon. Fe^{3+} -lisäys kasvatti rautaa pelkistävien mikrobien biomassaa, joka johti suurempaan hiilen mineralisaatioon ja yhdistelmävaikutuksena metanogeenien inhibitioon kun mineralisaatio kasvoi 100 %. Fe^{3+} -pelkistävät bakteerit kuluttivat asetaattia nopeammin kuin metanogeenit ja laskivat vedyn määrän metanogeenille riittämättömäksi.

Myös Bodegom, Scholten ja Stams (2004, 263, 266) havaitsivat Fe(III) inhiboivan etenkin vetyä ja hiilidioksidia hyödyntäviä metanogeenieja, oletettavasti näiden F420-kofaktorin inaktivoituessa korkeassa Fe(III) -pitoisuudessa.

5.2.1 Ferrokloridi ja ferrosulfaatti

Ferrokloridilla on kaksi AD-prosessia hyödyttävää vaikutusta: rikkivedyn ja struviitin synnyn ehkäisy. Ferrokloridin vaikutus AD-prosessin mikrobiflooraan on vähemmän tunnettua. On ehdotettu että ferrokloridi vähentää alkaliniteettiä, koska rautakarbonaattia saostuu (Kaava 3):



Ferrosulfaattikin vähentää rikkivedyn inhibiiovaikutusta. Myös raskasmetallit yhdistyvät ferrosulfaatin sulfidin kanssa ja vapautuva Fe^{2+} on vähemmän haitallista anaerobisille mikrobeille. (Chen, Cheng & Creamer 2007, 4053.)

5.2.2 Ferro(II)-persulfaatti

Lietteen kuivauksen uusiin tekniikoihin luettava oksidaatio persulfaatilla yhdessä Fe(II)-raudan kanssa voi suurina annoksina haitata mädätystä. Persulfaat-tisuola $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ hajoaa vedessä muodostaen persulfaatianionin $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$, joka on voimakas hapetin. Reaktiossa Fe(II)-raudan kanssa anioni muodostaa vapaan sulfaattiradikaalin SO_4^- , jonka redox-potentiaali on suuri, 2,6 V. SO_4^- hajottaa lieteflokkeja ja vapauttaa niihin sitoutuneen veden parantaen näin kuivaustu-losta. SO_4^- hajottaa myös EPS:ää ja vähentää siten solujen vastustuskykyä eri-laisia myrkyllisiä yhdisteitä vastaan. (Zhen ym. 2013, 275.)

Zhenin ym. (2013, 275–278) tutkimuksessa Fe(II) $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ annostukset olivat 0,4, 0,8 ja 1,2 mmol $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ /gVSS. Fe(II) $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ -moolisuhde oli 0,8, jolloin raudan määrät olivat vastaavasti 0,5, 1,0 ja 1,5 mmol Fe(II)/gVSS. Mitä korkeampi annostus oli, sen pienempi oli TSS- ja VSS-vähenemä. Kun vertailureaktorin TSS- ja VSS-vähenemät olivat 25,4 % TSS ja 32,0 % VSS, niin Fe(II)-persulfaattikäsiteltyjen vastaavat olivat pienimmästä annoksesta suurimpaan 24,0 %, 29 %, ja 14,0 % TSS sekä 21,6 %, 17,0 % ja 16,9 % VSS. Lietteen Fe(II) $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ -esikäsitteily inhiboi mädätysprosessin mikrobien metaboliaa, jonka seurauksena TSS- ja VSS-poiston tehokkuus laski. Sulfaattiradikaalit ha-jottivat mikrobeja suojaavaa EPS:ää ja vahingoittivat myös suoraan mikrobien soluseinämiä ja solukalvoja, jolloin niiden läpäisevyys kasvoi. Kokeen loppua kohden mikrobien EPS-tuotanto kasvoi ja seurauksena vähensi Fe(II) $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ -käsitteilyllä saatua etua lietteen kuivattavuudelle.

Myös H_2S :n määrä vaikutti riippuvan Fe(II) $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ -annostuksesta. Zhenin ym. (2013, 280) tutkimuksessa pienimmällä annoksella syntyi 40 vuorokautta kes-täneen tarkkailujakson aikana 243,4 % enemmän rikkivetyä kuin vertailureak-torissa. Fe(II) $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ -oksidatio lisää liuenneita rikkiyhdisteitä, kuten $\text{S}_2\text{O}_4^{2-}$ ja S^{2-} mikä lisää SRB:n aktiivisuutta.

Suuremmilla annoksilla rikkivetyä syntyi kuitenkin 60,5 % ja 34,6 % vähem-män kuin vertailureaktorissa. SO_4^- :n aiheuttaman SRB-inhibition syyksi Zhen ym. (2013, 280) ehdottivat rikkivedyn tuottoon sitoutuneen proteiinin SO_4^- pe-räistä alhaista pitoisuutta ja H_2S synnyn sijaan tapahtuvaa saostumista FeS, FeS_2 ja S^0 -muotoihin. Merkille pantavaa on, että kahdesta suuremmasta annok-sesta pienempi laski enemmän rikkivedyn tuotantoa. Tällöin voidaan sopivalla annostuksella löytää sopiva kompromissi lietteen kuivattavuuden, rikkivedyn hallinnan ja mädätyksen mahdollisimman pienen inhibition väliltä.

5.2.3 Nollavalenssirauta

Nollavalenssiraudat ZVI ja nZVI sekä edistävät että estävät mikrobien toimintaa. ZVI lisää vedyn tuotantoa ja toimii elektronin siirtäjänä mikrobeille suoraan tai välillisesti. NZVI edistävä vaikutus on havaittu 1,0 g/l ja 1,5 g/l annostuksilla. Yang ym. (2013, 6790) vertailivat ZVI:n (keskimääräinen hiukkaskoko alle 220 μm) ja nZVI:n (keskimääräinen hiukkaskoko $55 \text{ nm} \pm 11 \text{ nm}$) vaikutusta metaanituottoon pitoisuudella 1–30 mM. NZVI laski metaanituottoa 20 % pitoisuudella 1 mM ja 69 % pitoisuudella 30 mM. ZVI puolestaan näytti parantavan metaanituottoa.

NZVI rikkoi solujen rakennetta, joka oli pääsyy inhibitioon. Lisäksi nZVI:n nopea liukeneminen nosti vedyn osapainetta liian nopeasti johtaen metanogeenien inhibitioon ja sen seurauksena bakteerien hallitsemiin hydrogenotrofisiin prosesseihin. Myös liukoisten rautaionien määrä nousi, jolloin nämä ionit kilpailivat metanogeenien tarvitsemasta fosforista. ZVI:n hitaampi liukeneminen nosti vedyn osapainetta hydrogenotrofisille metanogeeneille sopivaksi, jolloin metaanituotto nousi. (Yang ym. 2013, 6791.)

NZVI:n nanopartikkelit vahingoittavat mikrobisolua rikkomalla solukalvoa ja tehden sen näin läpäisevämmäksi. Ne myös vaurioittavat DNA:ta ja inaktivoivat entsyymejä, sekä saattavat käynnistää solunsisäisen reaktiivisen hapen tuotannon, joka johtaa apoptoosiin, eli ohjelmoituun solukuolemaan. NZVI-partikkeleiden pinnalla on voimakkaasti pelkistävät olosuhteet ja nanopartikkeleina niiden suhteellinen pinta-ala on suuri. (Yang ym. 2013, 6791.)

5.3 Polymeerit

Polyelektrolyyttien eli ionisten polymeerien ekotoksisuuteen vaikuttaa polymeeriketjun koko, joka vaikuttaa myös polymeerin suorituskykyyn eri soveluksissa. Toksisuus riippuu voimakkaasti polymeerin pinnan ja biologisen pinnan vuorovaikutusalueen koosta. Kun testattiin kahden saman varaustiheyden ja molekyylipainon kationisen polyakryyliamidiflokkulantin ekotoksisuutta kolmeen eri asteen organismiin (mikrolevä, vesikirppu, simpukka), havaittiin ekotoksisuuden vähenevän organismin monimutkaisuuden kasvaessa. Suhteellinen kuolettava annos simpukalle oli viisisataakertainen levän kasvun pysäyttävään vastaavaan annokseen verrattuna. (Costa, Pereira, Gomes, Gonçalves, Hunkeler & Rasteiro 2014, 179.)

Tutkimuksessa käytetyistä polyelektrolyyteistä toinen oli lievästi haarautunut (1 haara/ketju) ja toinen voimakkaasti haarautunut (4 haaraa/ketju). Kehittyneemmillä organismeilla haarautuneisuuden kasvu vähensi huomattavasti toksisuutta. Voimakkaasti haarautuneilla polymeereillä varautuneet segmentit ovat paremmin suojassa ympäröivän liuoksen ionivaikutukselta ja polymeerimolekyylit pysyvät kompaktimpana ionipitoisuuden kasvaessa kuin vähemmän haarautunut. Täten sen kosketuspinta biologisiin pintoihin on pienempi ja vai-

kutus vähäisempi kehittyneemmillä organismeilla, joiden pinta-alan ja tilavuuden suhde on pienempi. Haarautuneisuuden vaikutus näytti olevan olematon mikrolevään, koska voimakkaan polymeeriannostuksen muut suorat vaikutukset todennäköisesti ylittivät tämän vaikutuksen. (Costa ym. 2014, 182.)

Kun polymeeri lisää veden viskositeettiä, sillä saattaa olla haitallinen vaikutus mikrobin liikkumiseen, ravinnon ottoon ja suodatuksen. Energian kulutus näissä toiminnoissa lisääntyy. Yleisesti kationiset polymeerit häiritsevät suoraan mikrobien fysiologiaa. Esimerkiksi suuret polymeeriketjut eivät läpäise soluseinää vaan jäävät sen pinnalle vaikuttaen soluseinän kuljetusmekanismeihin ja häiriten siten soluhengitystä ja ioniregulaatiota. Kationisilla polymeereillä on voimakas affiniteetti mikrobien negatiivisesti varautuneeseen ulkopintaan ja mikrobien suhteellisen suuri pinta-alan ja tilavuuden suhde voimistaa toksista vaikutusta. (Costa ym. 2014, 182.)

Annostus on tärkein tekijä inhibition syntyyn. Liiallinen PAM-annos inhiboi hydrolyysiä aiheuttamalla kolloidista kertymää ja saattaa myös myötävaikuttaa ammoniakki-inhibition syntyyn, jos runsaasti PAM:ia hajoaa vapaaksi ammoniumtypeksi. PAM hajoaa ensin akryyliamidiksi, joka on hyvin myrkyllinen monomeeri, sitten nopeasti ammoniakiksi ja myrkyttömäksi akryylihapoksi sekä edelleen hiilidioksidiksi ja vedeksi. (Campos, Almirall, Martínez-Almela, Palatsi, Flotats 2006, 391.)

Campos ym. (2006, 388) tutkivat sellaisen sianlantalietteen biokaasupotentiaalia, jonka neste- ja kiintoaineosan erotusta oli tehostettu PAM:n avulla. Tarkastelun kohteena oli annostuksen vaikutus metaanin maksimituoton ja TS-pitoisuuden suhteeseen SFPS:ssä, eli lannan kiintoainejakeessa. Toinen tarkastelukohde oli PAM:n anaerobinen toksisuus. Metaanintuottotestiä varten tehtiin neljä substraattiseosta (Taulukko 3) ja sekoitettiin eri suhteissa viideksi erilaiseksi TS/PAM-kombinaatioksi (Taulukko 4, s. 32). Metaanintuottotestissä ympin ja substraatin suhde oli 1:10. Tavanomainen laitoksen PAM-annostus 120 mg/l nosti TS osuuden SFPS:ssä 1,3 %:sta 13 %:iin ja 140 mg/l annostus yli 30 %:iin.

Taulukko 3. Substraatit ja ymppi. SFPS: Solid Fraction of Pig Slurry, PS: Pig Slurry. (Mukattu lähteestä Campos ym. 2006.)

Näyte	PAM annos		Koostumus g/kg				
	mg/l	g/kg TS	TS g/kg	VS g/kg	COD g/kg	Ntk g/kg	N-NH ₄ ⁺ g/kg
SFPS-1	140,0	14,3	313,6	233,6	272,0	18,8	3,1
SFPS	120,0	12,2	136,1	100,4	96,3	7,8	1,9
SFPS-0	0,0	0,0	13,6	7,4	17,1	2,0	1,5
PS			9,8	5,5	6,2	0,9	0,8
Ymppi			39,5	22,7	28,2		

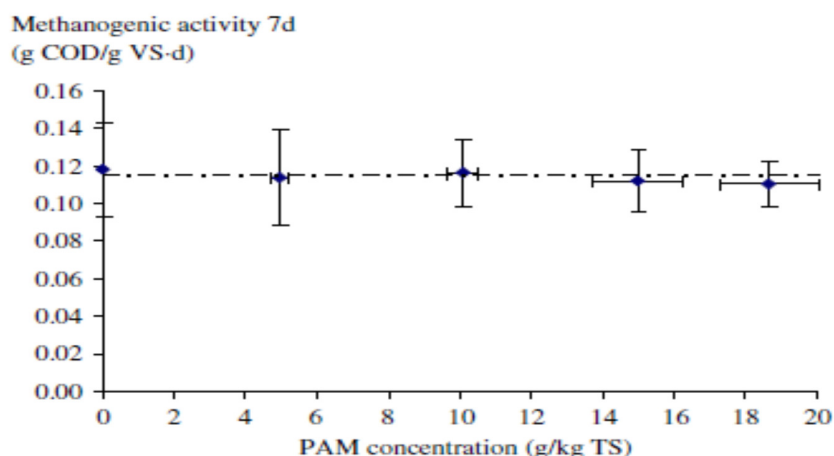
Taulukko 4. TS/PAM-kombinaatit. (Muokattu lähteestä Campos ym. 2006.)

Käsittely	PAM annos		Substr. kompositio % w/w			Substraatin koostumus		
	mg/l	g/kg TS	SFPS-1	SFPS	SFPS-0	TS	VS	COD
T1	140,0	14,3	100	0	0	313,6	233,6	272,0
T2	130,0	13,3	50	50	0	210,0	155,8	200,7
T3	120,0	12,2	0	100	0	136,1	100,4	96,3
T4	100,0	10,4	0	85	15	98,7	71,4	85,0
T5	0,0	0,0	0	0	100	13,6	7,5	14,8
T6 (blank)		0,00	0	0	0			

Taulukon 5 käsittelyt T2–T5 edustavat tavallisia PAM-pitoisuuksia ja T6 yliannostusta. PAM:n toksisuutta metanogeneesille ei tässä kokeessa käytetyillä annostuksilla esiintynyt. Yliannostuksella metaanintuotto nousi hieman, joka viittasi kyseisen PAM:n jonkinasteiseen biohajoavuuteen. Metanogeeninen aktiivisuus ei merkittävästi vähentynyt alle 415 g/kg TS PAM-annostuksella. PAM-konsentraation vaikutus välillä 0–20 g/kgTS on kuviossa 5.

Taulukko 5. PAM:in toksisuustesti. Acm: maksimi metanogeeninen aktiivisuus. (Tiedot muokattu lähteestä Campos ym. 2006).

Käsittely	PAM mg/L	PAM g/kg TS	Acm g COD/g VS vrk	ml CH ₄
T1	0,0	0,0	0,118	76,3
T2	33,3	5,0	0,114	75,2
T3	66,9	10,1	0,116	76,9
T4	99,3	15,0	0,117	75,6
T5	125,6	18,7	0,111	78,4
T6	2775,2	414,8	0,107	87,0



Kuvio 5. Metanogeeninen aktiivisuus PAM-konsentraation suhteen (Campos ym. 2006.)

Luo, Yang, Xua, Zhoua, Zeng, Huang, Xiao ja Wang (2011, 70) tutkivat PAM-annostuksen vaikutusta aktiivilietteen ominaisuuksiin SBR-reaktorissa. Kun annostus oli ≥ 1 mg/l, muodostui suuri määrä harvarakenteisia flokkeja, jotka haittasivat hapensiirtoa, seurauksena lietteen hajoaminen, huono laskeutuvuus ja alentunut mikrobien aktiivisuus. Kokeen PAM oli kationinen ja sekä varaus- tiheydeltään että molekyyllipainoltaan suuri. PAM:in epätasainen pinta tarjosi mikrobeille hyvän kasvualustan, mutta annostuksen kasvaessa korkea varaus- tiheys ja kationisuus aiheuttivat ongelmia.

Suuren molekyyllipainon flokkulanteissa on paljon vapaita funktionaalisia ryh- miä, jotka ulottuvat kauas molekyylin pinnasta ja siltaavat kiintoainepartikke- leita flokkeiksi. Kationisen PAM:in varauksen vetovoima lisää partikkelien liit- tymistä flokkeihin. Suuri PAM- määrä voi johtaa negatiivisesti varautuneiden partikkelien pintavarauksen vaihtumiseen positiiviseksi, jolloin partikkelien välillä syntyy kilpailua siltauksesta ja flokit heikkenevät. Luon ym. (2011) ko- keessa myös hapensiirto ja sen myötä mikrobiaktiivisuus heikkenivät.

5.4 Luonnollisten polymeerien havaittuja vaikutuksia

Viime vuosina kiinnostus ympäristöystävällisiin kemikaaleihin jätteen ja jäte- veden käsittelyssä on kasvanut. Seurauksena uusiutuvista lähteistä peräisin ole- vien orgaanisten polymeerien ja polysakkaridien suosio on kasvanut. Seuraa- vassa näistä käsitellään kitosaania ja tanniinia, joilla on antimikrobisia ominai- suuksia.

5.4.1 Kitosaani

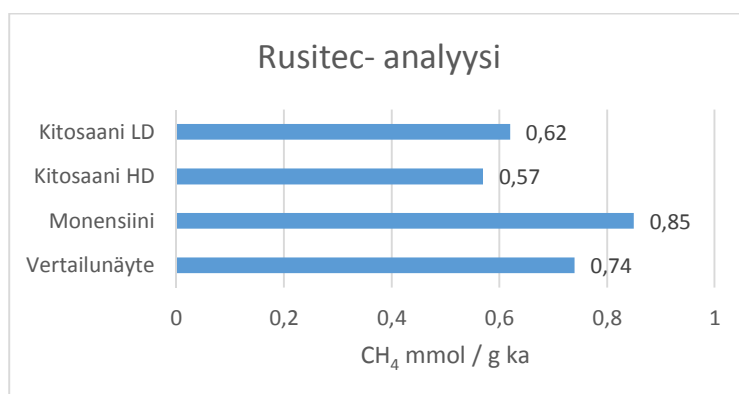
Kitosaanin on havaittu lyhentävän UASB-reaktoreiden käynnistysvaihetta edesauttamalla anaerobisten granuloiden syntyä. Kitosaanilla on samankaltai- sia ominaisuuksia kuin mikrobien tuottamalla EPS:llä. Asidogeenien tuottama EPS muodostaa kolmiulotteisia matriiseja. Kitosaani muodostaa samankaltai- sia suojaavia matriiseja, jotka edistävät mikrobien vuorovaikutusta ja lisäänty- mistä. Ne myös suojaavat matriisien sisään jääviä metanogeeniä uloshuuhtou- tumiselta vähentämällä riskiä kulkeutua kaasukuplan mukana ulos reaktorista. Kitosaanin positiivinen varaus ja EPS:n tapainen polysakkaridiluonne edistävät yhteenliittymistä ja granuloiden muodostumista. (Wang, Hu & Wu. 2004, 177).

Kitosaanilla on myös antimikrobisia ominaisuuksia. Yhtenä selityksenä pide- tään kitosaanin positiivisesti varautuneiden aminoryhmien aiheuttamaa vuotoa mikrobien negatiivisesti varautuneissa solukalvoissa. Kitosaani voi solukalvon läpäistytään sitoutua DNA:han ja estää mRNA- ja proteiinisynteesiä.

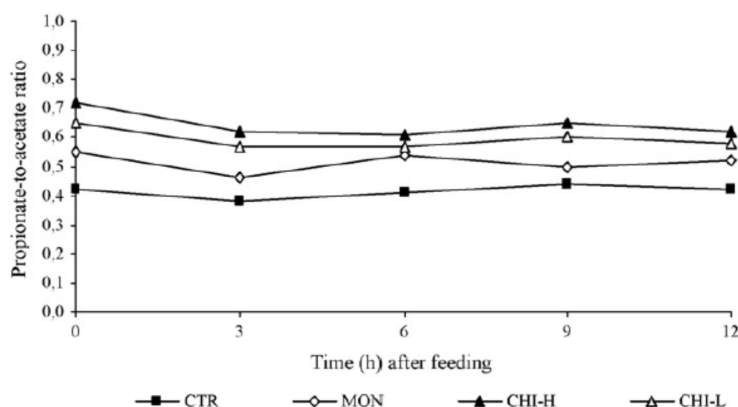
Kitosaania on tutkittu märehtijöiden ruokavalion metaanintuottoa alentavana ainesosana. Kitosaanin on havaittu muokkaavan märehtijän ruoansulatuksessa VFA-tuotantoa propionaattia lisääväksi ja metaanintuottoa vähentäväksi. Ruo- ansulatus on muuttunut energiatehokkaamman fermentoinnin suuntaan, mutta

ravinnon sulavuus on kuitenkin vähentynyt. (Goiri, Garcia-Rodriguez & Ore-gui 2008, 93).

Goiri ym. (2008, 94–95) tutkivat kitosaanin vaikutusta mm. metaanituottoon Rusitec-laitteistolla substraattina märehitjän ruokavalio. Lisäksi tutkittiin mikrobien sopeutumista eri substraatteihin *in vitro* -kokeella metaanituotto indikaattorina. Substraatteina *in vitro* -kokeessa oli tärkkelys, selluloosa ja Rusitec-analyysin substraatti. Rusitec-analyysissä kahteen näytteeseen lisättiin päivittäin kokeen kahdeksannesta päivästä alkaen kitosaania korkea ja matala annos, 1 380 mg ja 690 mg, sekä yhteen näytteeseen monensiiniä 16 mg annos. Vertailunäytteessä ei ollut lisäystä. Substraatti oli 10 g alfalfaa ja 10 g ravinnekon-sentraattia sekä 80 g mahalaukun sisältöpuristetta pusseissa, jotka vaihdettiin kahden vuorokauden välein. Astian liuos oli 400 ml märehitjän mahalaukunestettä ja 300 ml keinotekoista sylkeä. Lisäksi astian läpi virtasi 533 ml kei-notekoista sylkeä vuorokaudessa. Kuviossa 6 on Rusitec-analyysin tulokset metaanituoton osalta ja kuviossa 7 propionaatin ja asetaatin muodostumisen suhde.



Kuvio 6. Rusitec- analyysi. Metaanituotto / kulunut kuiva-aine (ka). HD: High Dose, LD: Low Dose. (Tiedot muokattu Goiri ym. 2008.)

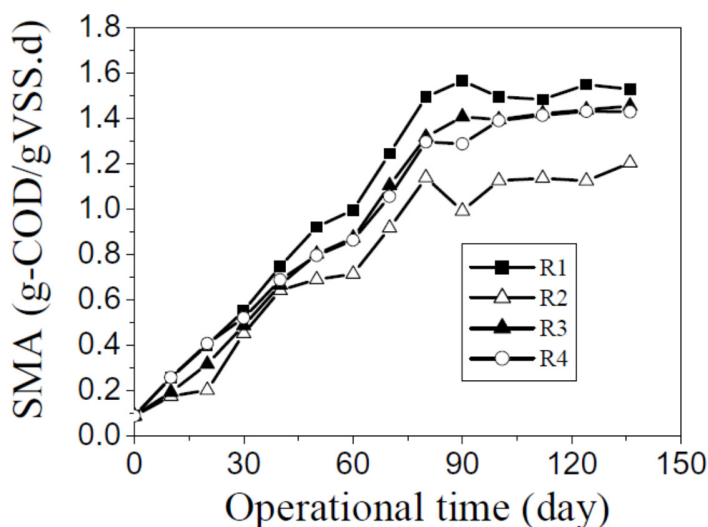


Kuvio 7. Propionaatin ja asetaatin muodostuksen suhde. CTR: vertailunäyte, MON: monensiini, CHI-H: kitosaani 1380 mg, CHI-L: kitosaani 690 mg. (Goiri ym. 2008.)

Rusitec-analyysissä kitosaani laski metaanituottoa ja monensiini lisäsi. Propionaatin tuotanto kasvoi ja asetaatin tuotanto pysyi ennallaan kitosaani- ja monensiininäytteissä. (Goiri ym. 2008, 97.)

In vitro -kokeen ympit olivat Rusitec analyysin astioista peräisin. Rusitec-analyysin vertailunäytteestä peräisin oleva ymppi tuotti eniten metaania kaikilla substraateilla. Korkeampi kitosaaniannos tuotti kuitenkin enemmän metaania kuin matala annos ja monensiini. (Goiri ym. 2008, 99.)

Kitosaania pidetään lupaavan myrkyttömänä, mutta osin ristiriitaisia tutkimustuloksia esiintyy. Renault, Sancey, Charles, Morin-Crini, Badot, Winterton ja Crini (2009, 775) havaitsivat kitosaanin toimivan PAC:ia tehokkaammin kartonkiteollisuuden jätevesien puhdistuksessa ja poistavan mm. raskasmetalleja tehokkaammin. Rizzo, Di Gennaro, Gallo ja Belgiorio (2007, 84) taas totesivat kitosaanilla käsitellyn pintaveden olevan *Daphnia magnalle* myrkyllisempää kuin ferrikloridilla tai alumiinisulfaatilla käsitellyn, mutta asiaan vaikutti monta tekijää, kuten metallien konsentraatio, humushappojen konsentraatio ja pintaveden kloorikäsittely. Wang, Hu ja Wu (2004, 180) vertailivat akryyliamidi-kitosaani perustaista kopolymeeriä (ACGC), polysakkaridiperustaista MBF21-bioflokulanttia ja kationista PAM:ia UASB-reaktoreissa, jolloin ACGC-reaktorissa metanogeenien aktiivisuus SMA oli matalin (Kuvio 8).



Kuvio 8. SMA UASB-reaktoreissa. R1: MBF21, R2:ACGC, R3: PAM, R4: ei flokkulanttia. (Wu ym. 2004).

5.4.2 Tanniini

Anionista tanniinia käytetään flokkulanttina liittämään esimerkiksi alumiinisulfaatilla destabiloidut kiintoainepartikkelien yhteenliittymät suuremmiksi flokeiksi. Tanniini on kasvien sekundaarinen metaboliitti, joka ei osallistu kas-

vin lisääntymiseen ja kasvuun, vaan sillä on mm. puolustuksellisia antimikrobisia tehtäviä. Tanniinit ovat polyfenolisia polymeerejä, joiden molekyylipaino on yleisesti melko korkea, mutta vaihtelee riippuen monomeeristen yksiköiden määrästä. Tanniinit voidaan jakaa hydrolysoituviin ja kondensoituneisiin tanniineihin (HT ja CT). Tanniini muodostaa proteiinien kanssa komplekseja fenolisten hydroksyyliyhmiensä avulla. (Patra & Saxena 2009, 2–8.)

Myös tanniinia antimetanogeenisenä tehoaineena on tutkittu mm. märehtijöiden metaanipäästöjä vähentäviä ruokavalioita kehitettäessä. *Quebracho*-puun tanniini on vähentänyt metaaninmuodostusta 25–51 %, kun ruokavaliossa oli tanniinia 10–20 g/kg kuivaruokaa. *In vitro* -kokeessa 75 % *Quebracho* CT 1–2 g/l substraattia laski metaanituottoa 12,3–32,6 %. *Acacia mearnsii* -puun tanniini on eläimestä ja annostuksesta riippuen laskenut metaanituottoa 7–20 % kuiva-aineen suhteen. HT-tanniini gallotanniinihappo alensi 50 % metaanituottoa, kun sen konsentraatio oli 0,7 g/l anaerobisessa lietteessä. (Patra & Saxena 2009, 9.)

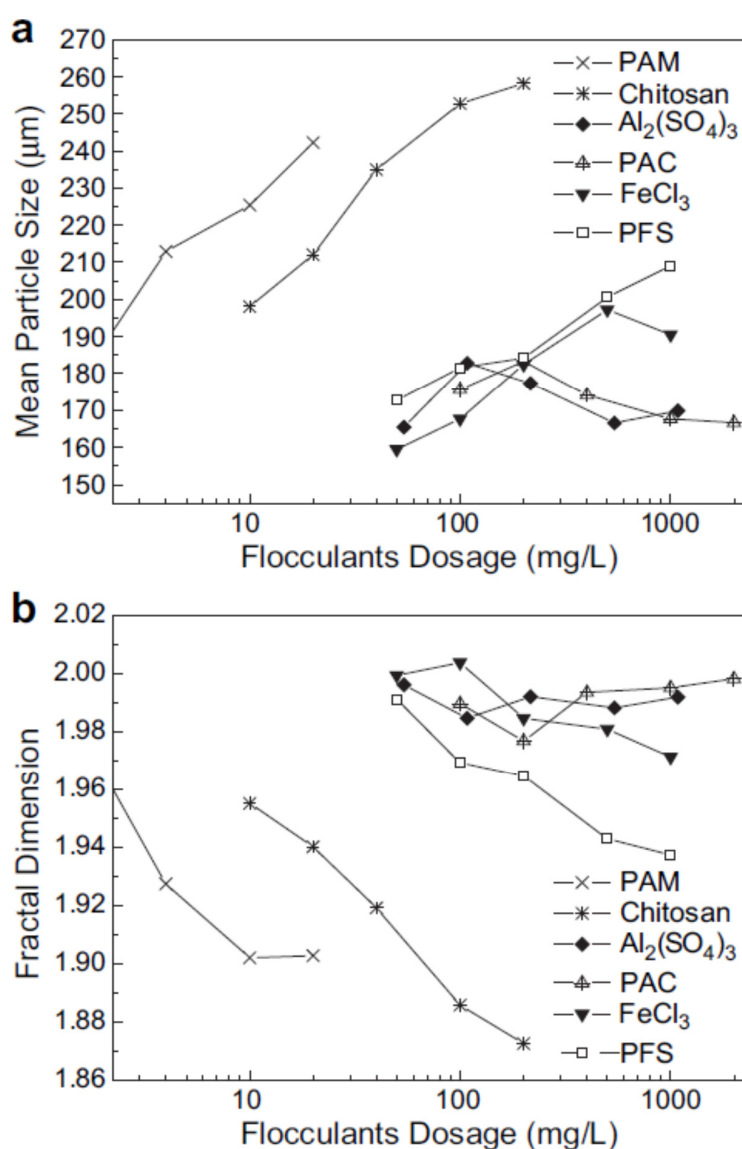
Märehtijöiden ruokavaliotutkimuksissa on havaittu molekyylipainoltaan matalampien tanniinien inhiboivan metanogeeniä tehokkaammin kuin molekyylipainoltaan korkeiden. Tämä johtuu niiden voimakkaammasta sitoutumisesta mikrobien entsyymeihin sekä mahdollisesti korkean molekyylipainon tanniinien vaikeuksista tunkeutua proteiineihin. Inhibitio riippuu tanniinin kemiallisesta rakenteesta ja myös mikrobilajista, yleisesti tanniinien on havaittu vähentävän alkueläinten ja metanogeenien määrää. HT-tanniinien vaikutus on yleensä voimakkaampi kuin CT-tanniinien. (Patra & Saxena 2009, 9–12.)

5.5 Vaahdonestoaineiden vaikutus

Vaahdonestoaineet hyödyttävät AD-prosessia vähentämällä vaahdon aiheuttamia haittoja prosessilaitteille, kuten reaktorin putkistoille, pumpuille ja antureille. Lisäksi itse prosessi hyötyy vaahdon syrjäytyessä kasvavasta tilavuudesta ja pidentyvistä käsittelyajasta. Kasviöljypohjaisten vaahdonestoaineiden on havaittu lisäävän metaanisaantoa. Kougias ym. (2013, 198) tutkivat vaahdonestoaineita panos- ja jatkuvatoimisissa bioreaktoreissa, joiden syötteenä oli lanta. Testatut vaahdonestoaineet olivat kapryylihappo (oktaanihappo), oleiinihappo, tavallinen rapsiöljy ja tributyylifosfaatti ja pitoisuudet 0,05, 0,1 ja 0,5 til- %. Rapsiöljy ja oleiinihappo lisäsivät metaanituottoa kaikilla pitoisuuksilla, kapryylihappo 0,1 til- % asti. Tributyylifosfaatti oli tehokkain vaahdonestossa mutta inhiboi metaanituottoa ja lisäsi VFA-pitoisuutta. Jatkuvatoimisessa reaktorissa rapsiöljyn keskimääräinen metaanituotto em. pitoisuuksilla oli 306, 282 ja 363 ml CH₄/gVS. Tributyylifosfaatin tuotto putosi jo 0,05 til- % pitoisuudella tasolle 176 ml CH₄/gVS ja pH laski 8,2 > 5,0. VFA-pitoisuus oli 4,8 g/l.

5.6 Flokkulanttien vaikutus mikrobien EPS ja SMP-tuotantoon

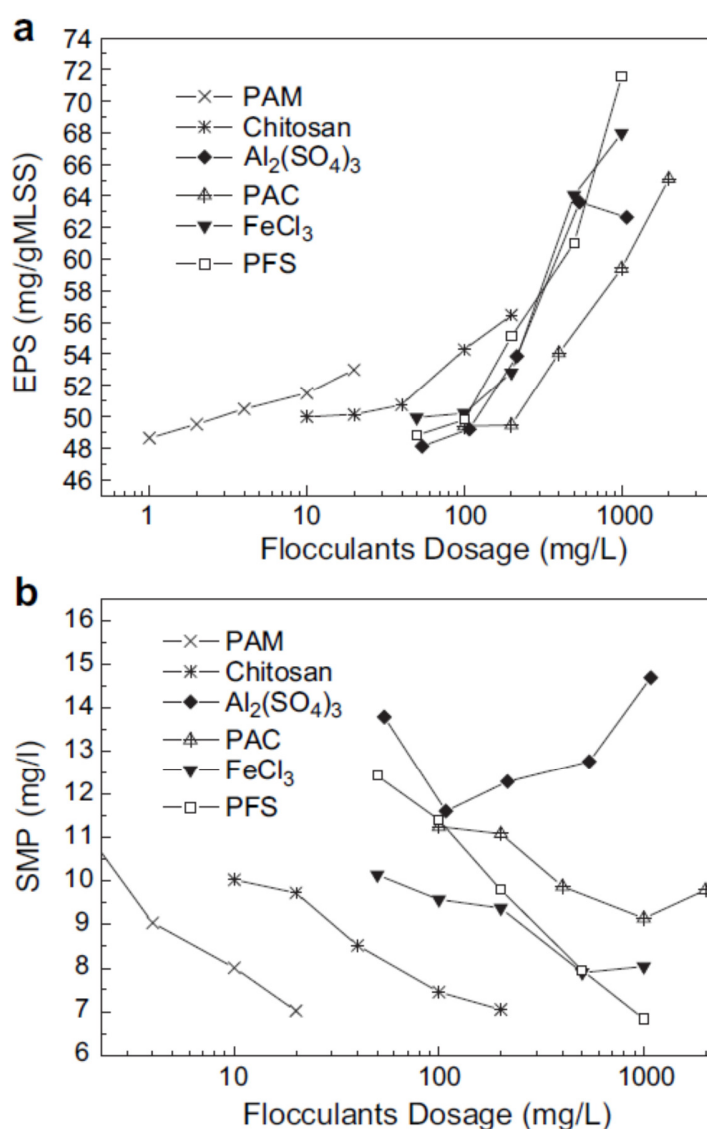
Ji, Qiu, Wai, Wong ja Li (2009, 1627) kokeilivat kuuden eri flokkulantin vaikutusta MBR-reaktorin biomassaan ja siihen liittyvään reaktorikalvojen tukkeutumiseen. Flokkulantit olivat alumiinisulfaatti, ferrikloridi, PAC, polymeeriferriksulfaatti PFS, kitosaani ja PAM. Kemikaalien annostuksessa tarkasteltiin annostuksen vaikutusta flokkien partikkelikokoon ja partikkelin muotoon. Flokin muotoa kuvataan fraktaalikertoimella, joka kasvaessaan ilmaisee flokin epäsäännöllisyyden kasvua järjestyksessä lineaarinen, tasomainen, kolmiulotteinen. Kuviossa 9 näkyy miten annoskoon suurentuessa partikkelikoko kasvaa ja fraktaalikerroin pienenee. Käytännössä tämä tarkoittaa, että muodostuu suuria flokkien yhteenliittymiä, joiden rakenne on väljä.



Kuvio 9. Annoskoon vaikutus flokkien a) kokoon ja b) muotoon. (Ji ym. 2009).

Jin ym. (2009, 1630) tutkimuksessa orgaaniset flokkulantit muodostivat suurempia flokkeja pienemmällä fraktaalikertoimella. Niiden vaikutus biomassan muotoon oli siten suurempi. Epäorgaanisilla flokkulanteilla annoskoon kasvu vaikutti lievemmin partikkelikokoon ja muotoon. Al^{3+} -suoloilla annoskoon kasvu pienensi flokkeja, mahdollisesti lisääntynyt elektrolyytti muutti varauksen neutraalista positiiviseksi.

Lähes kaikilla flokkulanteilla annosten kasvaessa EPS:n pitoisuus kasvoi ja SMP:n väheni, (Kuvio 10). Al^{3+} -suoloilla annoksen kasvaessa EPS-pitoisuus kääntyi lopulta laskuun ja huomattavasti aiemmin SMP-pitoisuus alkoi nousta, mikä viittaa siihen että SMP:tä kulkeutuu flokkirakenteesta ympäröivään liuokseen. (Ji ym. 2009, 1631.)



Kuvio 10. EPS-pitoisuuden kasvu ja SMP:n lisääntyminen flokkulanttiannoksen kasvaessa. (Ji ym.2009).

Kitosaani ja PAM nostivat eniten MBR-lietteen dynaamista viskositeettia, joka yleisesti riippuu biomassan konsentraatiosta. Kationiset flokkulantit neutraloivat negatiivisen varauksen ja annoskoon kasvaessa PFS ja PAC alkoivat muodostaa flokkien pinnalle positiivista varausta. (Ji ym. 2009, 1631.)

Jin ym. (2009, 1635) mukaan polymeeriset flokkulantit olivat edullisempia MBR-reaktorin suodattimen suorituskvyyllle ja Fe^{3+} -suolat parempia kuin Al^{3+} -suolat. Orgaaniset flokkulantit vaikuttivat eniten biomassan morfologiaan ja epäorgaaniset EPS- ja SMP-tuotantoon. Epäorgaanisilla zetapotentialiaa ja suhteellista hydrofobisuutta nostava vaikutus oli suurempi.

5.7 Nanopartikkelikoon vaikutus

AD-prosessissa tapahtuu suuri määrä erilaisia reaktioita, osin hyvin monimutkaisia ja toisiin reaktioihin johtavia. Sen lisäksi syötteen mukana tulevien aineiden valikoima on laaja ja vaihteleva. Orgaaniset inhibiittorit (klorofenolit, halogenoidut alifaatit ja LCFA) sekä epäorgaaniset (ammoniakki, rikki ja raskasmetallit) ovat varsin kattavasti tutkittuja.

Edellä on sivuttu aineityypin lisäksi ainepartikkelin koon vaikutusta, kun partikkelin koko pienenee nanoluokkaan. Metallinanopartikkeleilla inhiboiva vaikutus syntyy nanopartikkelin korroosion myötä syntyvästä metalli-ionista. Usein nanopartikkelit ovat keinotekoisia, jotain tarkoitusta varten valmistettuja. Niitä tulee AD-prosessiin teollisuuden jätevirroista ja kuluttajatuotteista ja niiden kerääntyminen puhdistamolieteteisiin on tunnettua. Nanopartikkelien inhiboivaa vaikutusta on sen myötä myös selvitetty. Prosessikemikaaleissa nanokoolla haetaan suurta tehollista pinta-alaa ja siten mahdollisuutta pienentää kemikaaliannoksia.

Prosessiin tulevien nanopartikkelien lisäksi AD-prosessissa voi syntyä nanopartikkeleita biosynteesin keinoin. Esimerkiksi hiivasolut syntesoivat metallifosfaatti ja –sulfidinanopartikkeleita. Bakteerien kykyä saostaa metalleja nanopartikkeleiksi pidetään lupaavana keinona puhdistaa metallien saastuttamia jakeita. AD-prosessilla on biologisena systeiminä potentiaalia tuottaa sekä prosessin kannalta että yleisesti hyödyllisiä ja myös vahingollisia nanopartikkeleita. Tämä on kuitenkin vielä vähän tutkittu alue. Osa alumiini- ja rautaperustaisten prosessikemikaaleista voi muuttua biosynteesin kautta nanopartikkeleiksi, jotka voivat edelleen vapauttaa mikrobeille haitallisia metalli-ioneja. Biosynteesin lisäksi nanopartikkeleita voi syntyä prosessissa vaikuttavien mekaanisten voimien tuloksena.

6 AIEMPIA BIOLIIKE-HANKKEEN TULOKSIA

Heinonen (2014) tutki Bioliike-hankkeeseen liittyvässä opinnäytetyössään biokaasulaitoksen rejektiveden kierrätyksen vaikutusta AD-prosessiin. 4 kk kestäneessä kokeessa oli käytössä 3 jatkuvatoimista reaktoria, tilavuudeltaan 10 l.

Syötteenä oli biojäte-puhdistamolieteseos. Laimennosvetenä oli kontrollireaktorissa (B) vesijohtovesi, kooreaktorissa (C) biokaasulaitoksen ammoniak-kistripattu rejektivesi sekä yhdessä kooreaktorissa (D) kooreaktorin poisteesta itse ammoniak-kistripattu rejektivesi.

Kumpikaan käytetyistä rejektivesistä ei heikentänyt reaktoreiden tilaa. Biokaa-sutuotto ja kaasun koostumus pysyivät likimain samana. Rejektiveden kierrätys nosti hieman alkaliteetin, VFA:n ja liukoisen COD:n määrää. Sulfaattipitoisuus sen sijaan nousi rejektivettä kierrättävissä reaktoreissa kokeen aikana. Rikkive-tyinhibiitiota ei kuitenkaan esiintynyt eikä biokaasun rikkivety-pitoisuus noussut merkittävästi.

Kokeen rejektivedestä ja reaktoripoisteista teetettiin analyysi Novalabin labo-ratoriossa, jonka tuloksia on taulukossa 6. Prosessikemikaalien kannalta analy-soiduista aineista ovat kiinnostavimmat alumiini ja rauta. Alumiinin pitoisuus reaktoripoisteissa oli vähentynyt, kooreaktorissa D lähes puoleen. Pitoisuudet on ilmoitettu kuiva-ainetta kohti, jolloin korkeinkin alumiinipitoisuus on alle 250 mg/l poistetta. Koska AD-prosessin mikrobit eivät hyödynnä alumiinia me-taboliassaan, alumiinia on ehkä sitoutunut mikrobimassaan tavoilla, joita on kuvattu luvussa 5.1.

Taulukko 6. Analyysitulokset. Muokattu Novalabin tutkimusraportista.

Pitoisuus mg/kg ka	Rejektivesi			Poiste reaktori B		Poiste reaktori D	
	1kk	2kk	4kk	0	4kk	0	4kk
Al	18	12	17	4500	3500	4700	2400
Fe	350	160	420	21800	64800	60500	47400
Cu	<10	<10	<10	180	200	180	140
Zn	<10	<10	<10	310	290	300	200
S	101000	107000	43700	8100	8700	9500	21100
SO ₄	303000	321000	131000	24300	26100	28500	63300

Raudan pitoisuus oli kontrollireaktorin poisteessa lähes kolminkertaistunut, kun taas kooreaktorin poisteessa pitoisuus oli vähentynyt n. 21,7 %. Laskennal-linen sulfaattipitoisuus SO₄ oli samalla yli kaksinkertaistunut. Voidaan olettaa että alhaisena pysyneen rikkivety-määrän sekä raudan ja sulfaatin välillä on yh-teys, jota on mahdollisesti auttanut sopiva mikrobilajisto.

Niin ikään Bioliike-hankkeeseen liittyvässä opinnäytetyössään Kopsala (2014) vertaili PAC-koagulanttia ja biohajoavaa tanniinipohjaista QTH-koagulanttia AD-prosessissa. Kationinen epäorgaaninen polyalumiinikloridi PAC oli Kemi-ran valmistama, kauppanimeltään PAX. QTH on tanniinipohjainen biopoly-meeri, jonka valmistaja on Grove Advanced Chemicals. Kokeessa oli käytössä kolme reaktoria, yksi kontrollireaktori ja kooreaktori kummallekin koagulan-tille. Reaktoreiden tilavuus oli 3,5 l ja syötteenä sikalaliete. Reaktoreiden toi-minnassa ei ollut suuria eroavaisuuksia eikä inhibitiota havaittu.

Koagulanteilla ei havaittu olevan vaikutusta reaktoreiden toimintaan kaasuntuottoa lukuun ottamatta. Kationisen epäorgaanisen PAC:n reaktori tuotti n. 10 % vähemmän kaasua kuin orgaanisen QTH:n reaktori ja kontrollireaktori. Näidenkin reaktoreiden poisteesta tehtiin analyyssejä sekä kokeen aikana paikallisesti että Novalabin laboratoriossa. Taulukossa 7 on Novalabin analyysien arvoja. Kunkin reaktorin alapuolella olevien sarakkeiden välinen aika on 14 vrk. H_{PAX}-reaktorin alumiinipitoisuus oli huomattavasti suurempi kuin muissa, tosin 14 vuorokautta vanhemman näytteen tulos puuttuu. Myös G_{QTH}-reaktorin alumiinipitoisuus oli kontrolliin verrattuna suunnilleen kaksinkertainen. G_{QTH}-reaktorin nuoremman näytteen kupari- ja sinkkipitoisuudet ovat selvästi muita alhaisempia mutta saavuttavat 14 vuorokauden jälkeen saman tason kuin muissa.

Taulukko 7. Analyysitulokset. Muokattu Novalabin tutkimusraportista.

Reaktori	F _{CONTROL}		G _{QTH}		H _{PAX}	
Al mg/kg ka	270	230	460	540	3300	
Fe mg/kg ka	1600	1500	1500	1400	1500	1400
Cu mg/kg ka	170	150	<10	150	160	150
Zn mg/kg ka	720	660	<10	630	680	650
S mg/kg ka	7900	8500	7900	8000	7200	7100
SO ₄ mg/kg ka	23700	25500	23700	24000	21600	21300

7 KOKEELLINEN OSA

Kokeellinen osa suoritettiin Hämeen ammattikorkeakoulun Visamäen toimipisteen ympäristölaboratoriossa. Kokeellisessa osassa tehtiin kaksi panoskoetta, joissa oli tavoitteena tuoda esiin eroja metaanituotossa epäorgaanisella ja orgaanisella polymeerillä käsitellyissä näytteissä ja lisäksi ultraäänikäsitellyn vaikutusta polymeereillä aikaansaatuihin flokkeihin. Panoskokeet tehtiin 2014 kesä-elokuun välisenä aikana.

7.1 Kokeellisen osan tausta

Chu, Lee, Chang, You, Liao ja Tay (2003, 757) tutkivat kolmen flokkulantin vaikutusta anaerobiseen hajoavuuteen. Syötteenä oli jätevedenpuhdistamon aktiiviliete, jonka ka-pitoisuus oli 9,39 g/l ja pH 6,7. Lietenäytteisiin lisättiin kolmea molekyylipainoltaan samanlaista mutta pintavaraukseltaan erilaista polyelektrolyyttiä, kationista T3052-, anionista T1052- ja nonionista T2000-polyakryyliamidia.

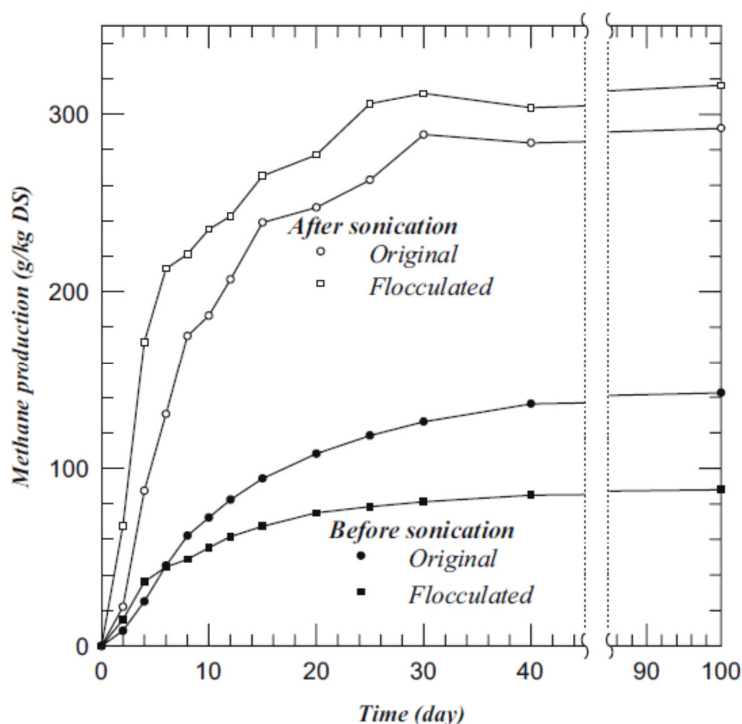
Kationisen, nonionisen ja anionisen polyakryyliamidin vaikutusta metaanintuottoon vertailtiin neljällä eri annostuksella: 1 g/kg ka, 5 g/kg ka, 15 g/kg ka

ja 40 g/kg ka. Lisäksi seurattiin muutoksia liukoisen COD:n suhteen, ATP-konsentraatiota sekä redox- ja ζ -potentiaalia (elektrokineettinen potentiaali kolloidisissa liuoksissa). (Chu ym. 2003, 758–759.)

Chu ym. (2003, 763) johtopäätökset kationisen polymeerin suuremman ja vaikeammin hajoavan flokkikoon inhiboivasta vaikutuksesta samoin kuin Grönroos (2010) tutkimus ultraäänikäsittelyn eli sonikoinnin biohajoavuutta parantavasta vaikutuksesta olivat koejärjestelyn taustalla. Chu, Lee, Chang, You ja Tay (2001, 2) olivat aiemmin tutkineet heikon sonikointikäsittelyn vaikutusta kationisella flokkulantilla (T3052-polyakryyliamidi) käsiteltyyn aktiivilietteen. Sonikoinnin taajuus oli 20 kHz, teho 0,33 W/ml, kesto 20 min ja lämpötila 25 °C. Koeastioina käytettiin 25 ml seerumipulloja, joissa oli 5 ml aktiivilietettä, 1 ml anaerobeja, sekä 4 ml kasvatusliuosta. Anaerobit olivat peräisin joenpohjan sedimentistä ja niitä oli inkuboitu 2 vuotta samaisella kasvatusliuoksella.

Sonikoinnilla metaanintuoton huippuarvo nousi ei-flokkuloidulla 104 % ja flokkuloidulla 260 %. Kuviossa 11 (s. 43) on Chu ym. (2001, 4) kokeen metaanintuottokuvaajat. Heikon sonikointikäsittelyn metaanintuottoa parantava vaikutus oli kokeessa hyvin suuri. Tekijät mainitsevat voimakkaan käsittelyn vielä tuottavammaksi mutta tehonkulutus tekee siitä epäkäytännöllisen. Grönroos, Kyllönen, Korpijärvi, Pirkonen, Paavola, Jokela ja Rintala (2004, 118) kokeessa sonikoidut lietenäytteet (2,5 ja 10 min.) tuottivat metaania näytetilavuutta kohti 8–17 kertaa enemmän kuin sonikoimaton. Tuotto m³/kg SCOD oli kummallakin sonikoidulla näytteellä yhtäsuuri ja n. 2,5-kertainen sonikoimattomaan verrattuna. Sonikointi lisäsi SCOD:n määrää mutta hajoavuus pysyi oletettavasti samana.

Näin suuri metaanituoton kasvu on epätodennäköistä käytännön prosesseissa, siihen ei myöskään päästy Grönroos ym. (2004, 118) toisessa panoskokeessa, jossa oli 20 eri tavoin sonikoitua näytettä. Metaanituoton kasvu oli tyypillisesti 10–20 %.



Kuvio 11. Metaanituotto sonikoitu vs. sonikoimaton, (Chu ym. 2001)

7.2 Materiaalit ja menetelmät

Kokeellisessa osassa käytettiin kahta Kemira Oyj:n polymeeriä, jotka olivat epäorgaaninen Superfloc C-494 ja orgaaninen Kemsep FP101. Superfloc C-494 on voimakkaasti kationinen, molekyylipainoltaan suuri polyakryyliamidi. Kemsep FP101 on orgaaninen polymeeri. Syötteenä oli kompostoituneen kananlannan ja sian lietalannan seos. Ymppinä käytettiin Hämeenlinnan Paroisten jätevedenpuhdistamon reaktorilietettä. Näyte/ymppi VS-suhde oli 0,5.

Polymeereistä valmistettiin 0,5 %:n vahvuinen työliuos sekoittamalla jauhe- maista polymeeriä nesteeseen, joka Superfloc C-494:n kohdalla oli tavallinen vesijohtovesi ja Kemsep FP101:n kohdalla 0,5 % etikkahappoliuos vesijohtoveteen valmistettuna. Polymeerijauheen lisäys tapahtui magneettisekoittajalla nesteeseen synnytetyn pyörteen ulkoreunalle. Tavoitteena oli saada polymeerijauhe sekoittumaan yksittäisinä partikkeleina, jotka vettyisivät ennen liuoksen viskositeetin nousua. Alkusekoitus tapahtui melko suurella nopeudella sopivan pyörteen aikaansaamiseksi ja polymeerijauhe siroteltiin pyörteen reunalle. Kierrosnopeutta laskettiin muutaman minuutin kuluttua, jotta syntyvät polymeeriketjut eivät vahingoittuisi. Orgaaninen polymeeri vettyi ja liukeni huomattavasti hitaammin. Liuosten homogenisoiduttua sekoitus pysäytettiin ja seoksen annettiin seistä yön yli kylmiössä.

Panoskoetta varten tehtiin 400 ml ymppe/näyte/polymeeriseokset Bioprocess Control -laitteiston pulloihin. Ennen ympin lisäystä tehtiin osalle näytteistä sonikointikäsittely Bandelin DT255 -ultraäänipesurilla, jonka ultraäänilähteen taajuus on 35 kHz ja teho 640 W. Käsittely kesti 15 min ja se tehtiin 10 g/l polymeeriannoksen sisältäville näytteille sekä näytteille, jotka sisälsivät pelkkä Superfloc-polymeeriä 10 g/l.

Näytepullot laitettiin Bioprocess Control -laitteiston vesihauteeseen, joka oli säädetty mesofiilisen prosessin 37,5 °C lämpötilaan. Pulloihin kytkettiin sekoittajat ja pulloissa oleva happi syrjäytettiin typpikaasulla. Kaasuntuoton seuranta käynnistettiin Bioprocess Control AMPTS II -ohjelmalla ja koe lopetettiin 14 vuorokauden kuluttua.

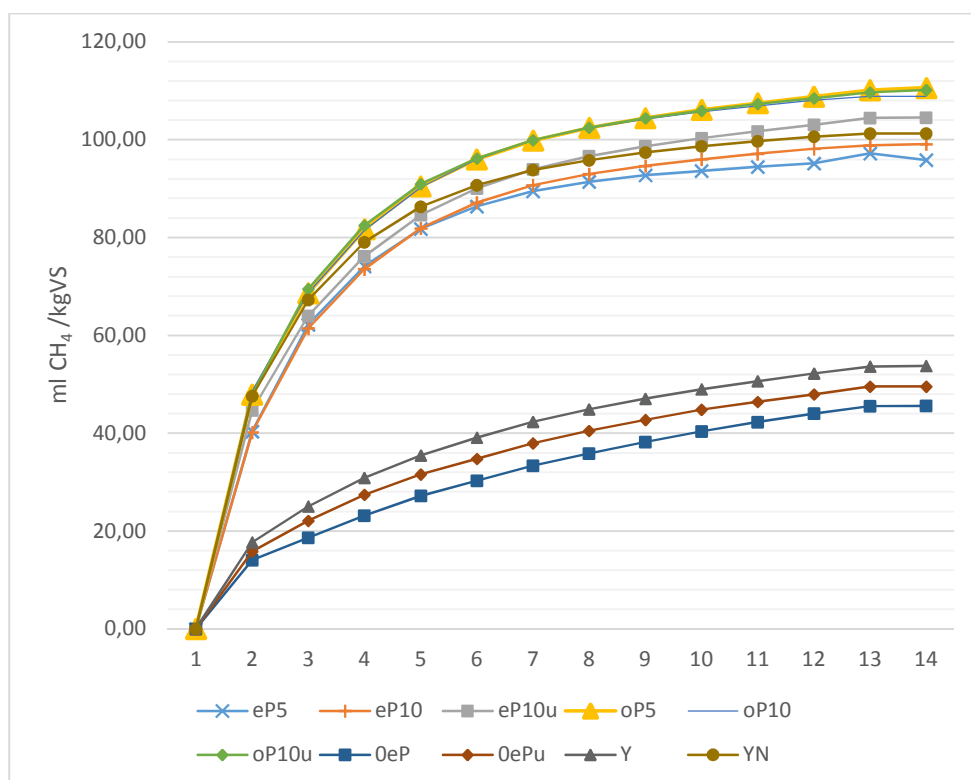
Koe toistettiin hieman muunneltuna. Ymppe oli samasta lähteestä kuin edellisessä kokeessa mutta substraattina oli pelkkä kananlanta ja substraatti- sekä polymeeriannostukset olivat suurempia. Näyte/ymppe VS-suhde oli 0,5. Polymeeriannokset olivat 15 g/l. Lisäksi sonikointi kesti kauemmin, 20 min./näyte. Näytteet käsiteltiin yksi kerrallaan, sijoittaen näyte aina samaan kohtaan ultraäänilähteeseen nähden.

8 TULOSTEN TARKASTELU

Tässä luvussa tarkastellaan panoskokeiden tuloksia AMPTS II -ohjelman tuottamien kumulatiivista metaanituottoa ilmaisevien tulosten pohjalta.

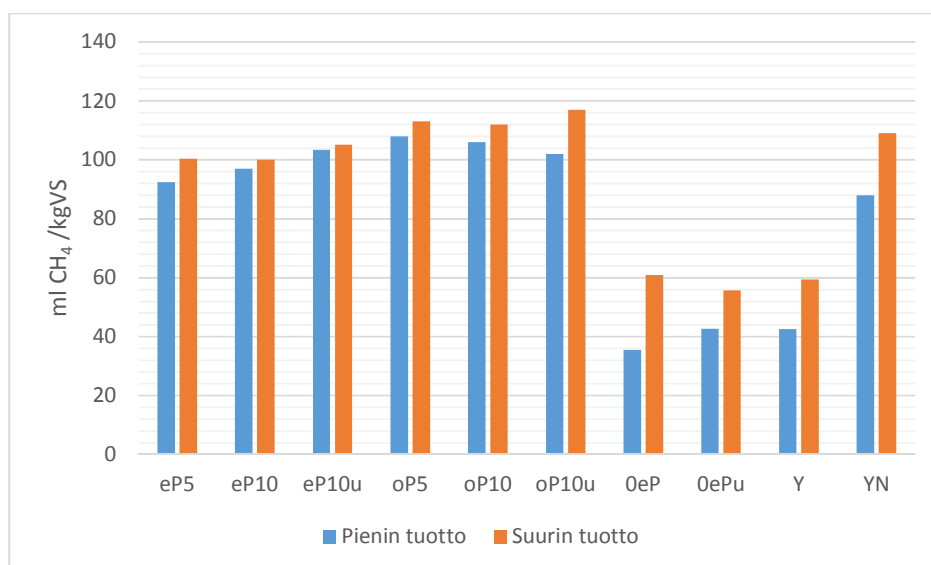
8.1 Metaanituotot

Tavoitteena oli tutkia metaanituoton eroja orgaanisella ja epäorgaanisella polymeerillä käsiteltyjen sekä käsittelemättömien näytteiden välillä sekä sonikoinnin vaikutusta. Kuviossa 12 (s. 45) on ensimmäisen panoskokeen kumulatiivisen metaanintuoton käyrät. Käyrät on piirretty kolmen rinnakkaisnäytteen keskiarvojen pohjalta. Kemsep-polymeeriin viitataan jatkossa orgaanisena polymeerinä lyhenteellä oP ja Superflociin epäorgaanisena polymeerinä lyhenteellä eP. Numero lyhenteen perässä kuvaa annosta g/l ja u sonikointia.



Kuvio 12. 1. panoskokeen metaanituotto. eP: näyte+epäorgaaninen polymeeri, oP: näyte+orgaaninen polymeeri, u: ultraäänikäsittely, Y: ymppe, N: näyte ilman polymeeriä, 0: pelkkä polymeeri

Orgaanisella polymeerillä käsiteltyjen näytteiden kumulatiivinen kaasuntuotto oli korkein. Sonikoitu oP10u tuotti eniten kaasua, mutta yhden rinnakkaisnäytteen heikompi tuotto laski keskiarvoa. Paras sonikoitu oP10u tuotti kumulatiivisesti 117 ml CH₄/gVS ja huonoin 102 ml CH₄/gVS. Käsittelemättömien vastaavat arvot olivat oP5 113 ml ja 108 ml CH₄/gVS sekä oP10 112 ml ja 106 ml CH₄/gVS. Polymeerittömän näytteen arvot olivat 109 ml CH₄/gVS ja 88 ml CH₄/gVS. Kuviossa 13 (s. 45) on kaikkien rinnakkaisnäytteiden paras ja huonoin tulos.



Kuvio 13. Rinnakkaisnäytteiden pienimmät ja suurimmat tuotot.

Pelkän polymeerin kaasuntuottovaikutuksen selvittämiseksi kokeessa oli mukana sarjat, jotka sisälsivät ympin lisäksi 10 g/l Superfloc-polymeeriä sonikoituna ja ei-sonikoituna. Keskiarvona nämä sarjat tuottivat vähemmän kaasua kuin vertailukohtana oleva pelkkä ymppi. Rinnakkaisnäytteissä oli kuitenkin suurta vaihtelua. Sonikoimattoman 0eP suurin ja pienin yksittäinen tuotto oli 61 ml CH₄/gVS ja 35 ml CH₄/gVS. Ympin yksittäinen suurin ja pienin 59 ml CH₄/gVS ja 43 ml CH₄/gVS. Sonikoidun 0ePu tuotto oli hieman korkeampi kuin sonikoimattoman 0eP:n. Tulosten kannalta hyödyllistä olisi ollut mahdollistaa mukaan myös pelkkää orgaanista polymeeriä sisältävät näytteet, korvaamalla esimerkiksi 5 g/l:n näytteet näillä.

Ympin kaasuntuotto oli n. 65 % pienempi kuin pelkän näyte/ymppi-seoksen. Epäorgaanisella Superfloc-polymeerillä käsitelty sonikoitu ja ei-sonikoitu ymppi taas tuottivat 8 % ja 15 % vähemmän kaasua kuin pelkkä ymppi. Epäorgaaninen kationinen polymeeri näytti vähentävän kaasuntuottoa, kuten Chu ym. (2003, 764) myös totesivat kokeessaan T3052-polymeerin kohdalla.

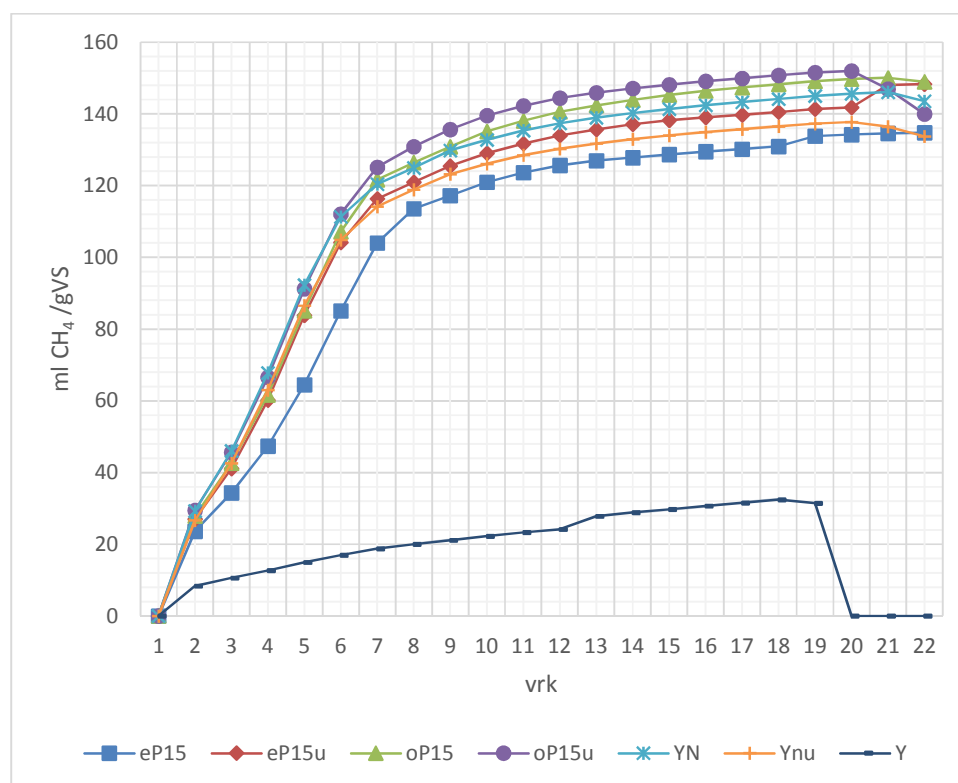
Sama kationisen polymeerin metaanituottoa alentava ja sonikoinnin tuottoa parantava vaikutus näkyy verrattaessa sarjoja eP5, eP10, eP10u ja YN. Sonikoinnin biohajoavuutta parantava vaikutus nosti eP10u-näytteen kaasuntuoton hieman paremmaksi kuin näytteen YN, kun taas käsittelemättömien polymeerinäytteiden tuotto jäi molempia alemmaksi.

Ensimmäisen kokeen viimeisenä vuorokautena lähes kaksi kolmasosaa näytteistä oli lopettanut kaasuntuoton ilmeisesti ravinnon loppumisen takia. Kompostoitu kananlanta ei ollut homogeenista vaan sisälsi mm. kiviainesta ja täten punnituksesta huolimatta syötteen ravinnemäärä ei todennäköisesti ollut kaikissa pulloissa identtinen.

Orgaanisella polymeerillä käsitellyissä näytteissä metaanituotto oli korkein. Tälle on luontevin selitys orgaanisen polymeerin toimiminen substraattina. Ultraäänikäsittelyn metaanintuottoa lisäävä vaikutus oli pienempi kuin epäorgaanisella polymeerillä. Tästä voidaan vetää johtopäätös että ultraäänikäsittely paransi biosaatavuutta, joka oli heikentynyt kationisen polymeerin muodostamasta flokkirakenteesta.

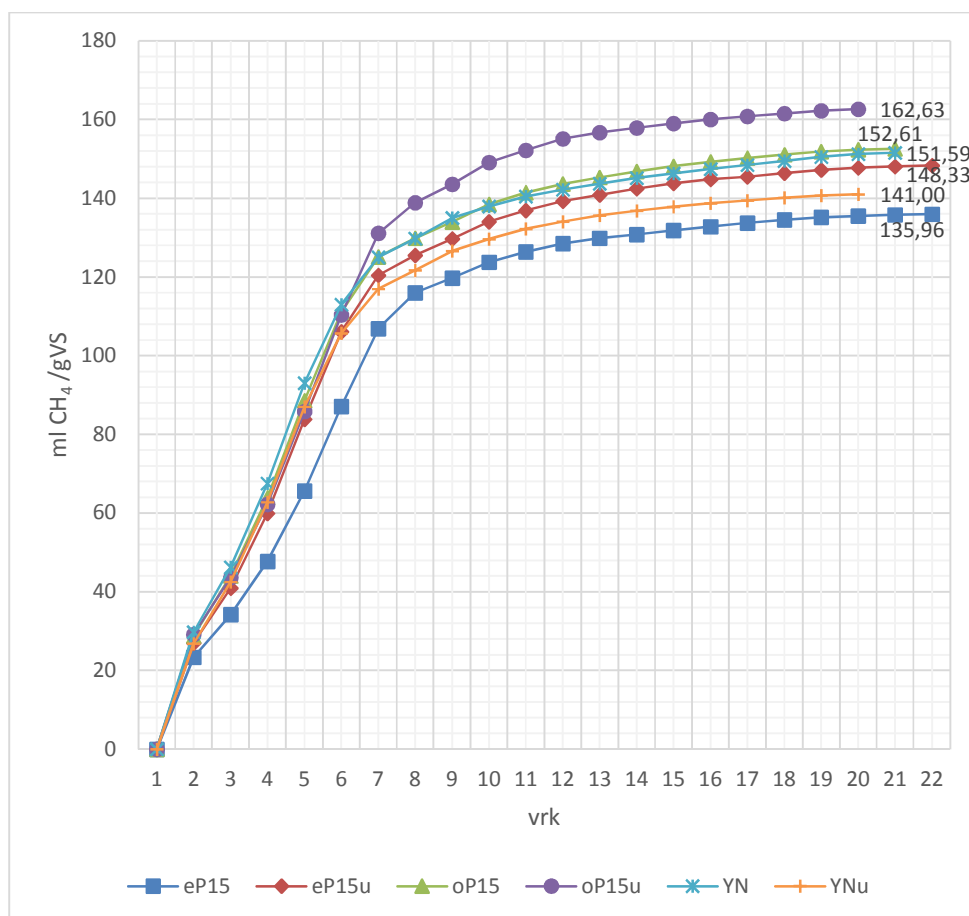
Toisessa panoskokeessa orgaanisella polymeerillä käsiteltyjen näytteiden metaanituotto oli korkein kunnes kokeen lopussa sonikoidun näytteen tuotto laski alemmaksi kuin käsittelemättömällä. Samalla sonikoitu epäorgaanista polymeeriä sisältävä näyte saavutti orgaanisen polymeerin tason. Sonikoimaton epäorgaaninen oli taas muita alempana. Tässä pidemmässä kokeessa näkyi kuitenkin lopussa, miten epäorgaanisen polymeerin näytteissä kumulatiivinen kaasuntuotto oli edelleen lievässä kasvussa kun muissa tuotto jo kääntyi laskuun. Ajan myötä mikrobit näyttävät siis kumoavan epäorgaanisen polymeerin biohajoavuutta heikentävän vaikutuksen.

Kuviossa 14 on kumulatiivisen metaanintuoton käyrät 22 vuorokauden ajalta. Käyrät ovat kolmen rinnakkaisnäytteen keskiarvoja. Mittalaite ei antanut enää 1–2 viimeisen vuorokauden aikana lukemaa kaikista rinnakkaisnäytteistä ja pelkän ympin kaasutuotto pysähtyi kokonaan.



Kuvio 14. 2. panoskokeen kumulatiivinen metaanituotto. eP: näyte+epäorgaaninen polymeeri, oP: näyte+orgaaninen polymeeri, u: ultraäänikäsittely, Y: ympä, N: näyte ilman polymeeriä.

Kuviossa 15 on parhaiten tuottaneiden rinnakkaisnäytteiden käyrät. Järjestys on sama kuin edellä, korkein tuotto on sonikoidulla orgaanista polymeeriä sisältävällä näytteellä ja matalin epäorgaanista polymeeriä sisältävällä. Kuviosta nähdään että mittaustulokset ei kahtena viimeisenä vuorokautena enää antanut tulosta sonikoiduille polymeerittömälle ja orgaanista polymeeriä sisältävälle näytteelle eikä viimeiseltä vuorokaudelta vastaaville ei sonikoiduille näytteille. Tämä oli kuitenkin tilanne vain parhaiten tuottaneilla rinnakkaisnäytteillä. Epäorgaanisten polymeerien näytteissä parhaiten tuottaneet sen sijaan antoivat loppuun asti mittaustuloksen. Suurimmat erot rinnakkaisnäytteissä olivat sonikoiduissa polymeerinäytteissä, orgaanisella 24 ml CH₄/gVS ja epäorgaanisella 38 ml CH₄/gVS. Muiden sarjojen erot olivat välillä 9–19 ml CH₄/gVS.



Kuvio 15. 2. panoskokeen parhaimpien rinnakkaisnäytteiden kumulatiivinen metaanituotto. eP: näyte+epäorgaaninen polymeeri, oP: näyte+orgaaninen polymeeri, u: ultraäänikäsittely, Y: ympäri, N: näyte ilman polymeeriä.

Toisen panoskokeen loputtua otettiin eP15u- ja oP15u-pulloista näyte ja tutkittiin ulkopuolisessa laboratoriossa, (Taulukko 8, s. 49). Analyysitulokset olivat melko samankaltaisia kuin taulukon 6 (s. 41) reaktoripoistenäytteillä (poiste Reaktori B 0). Orgaanista polymeeriä sisältävän oP15u-näytteen pitoisuudet

olivat suurempia ja rautapitoisuus huomattavasti suurempi kuin epäorgaanisen eP15u-näytteen.

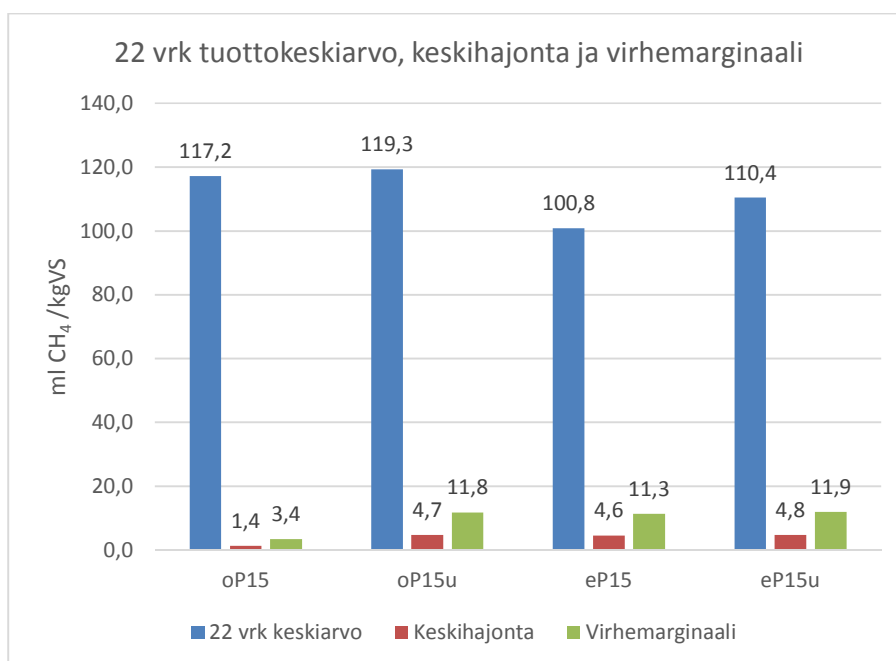
Taulukko 8. Epäorgaanista ja orgaanista polymeeriä sisältävien näytteiden analyysitulokset. (Muokattu Novalabin tutkimusraportista.)

Näyte	eP15u	oP15u
Al mg/kg	4400	5500
Fe mg/kg	27900	38000
Cu mg/kg	160	180
Zn mg/kg	570	610
S mg/kg	6800	7200
SO4 mg/kg	20400	21600

8.2 Virhetarkastelu

Virhelähteet kokeellisessa osassa sijoittuvat pääosin koeastioiden täyttöön, jossa punnittiin astioihin ympä, substraatti ja vesi-polymeeriseos. Edellä on mainittu kompostoituneen kananlannan koostumus, joka varsinkin näin pieninä annoksina vaikeutti identtisen ravintomäärän annostelua näytteisiin. Polymeerin käyttöliuos annosteltiin ensimmäisessä kokeessa automaattipipetillä ja toisessa kokeessa injektioruiskun mittatarkkuudella. Injektioruiskun mittatarkkuus on pienempi mutta ruiskun tyhjennys onnistui paremmin.

Kuviossa 16 (s. 50) on toisen panoskokeen orgaanisen ja epäorgaanisen polymeerikäsittelyn näytteiden 22 vuorokauden kumulatiivisen tuoton keskiarvot, keskihajonnat (keskiarvon keskivirhe) ja virhemarginaalit. Keskiarvot on laskettu rinnakkaisnäytteiden keskiarvoista.



Kuvio 16. Tuottokeskiarvo, keskihajonta ja virhemarginaali

Lisäämällä ja vähentämällä virhemarginaali keskiarvosta voidaan laskea luottamusvälin ylä- ja alaraja.

oP15 keskiarvon 95 % luottamusväli on 113,8–120,6

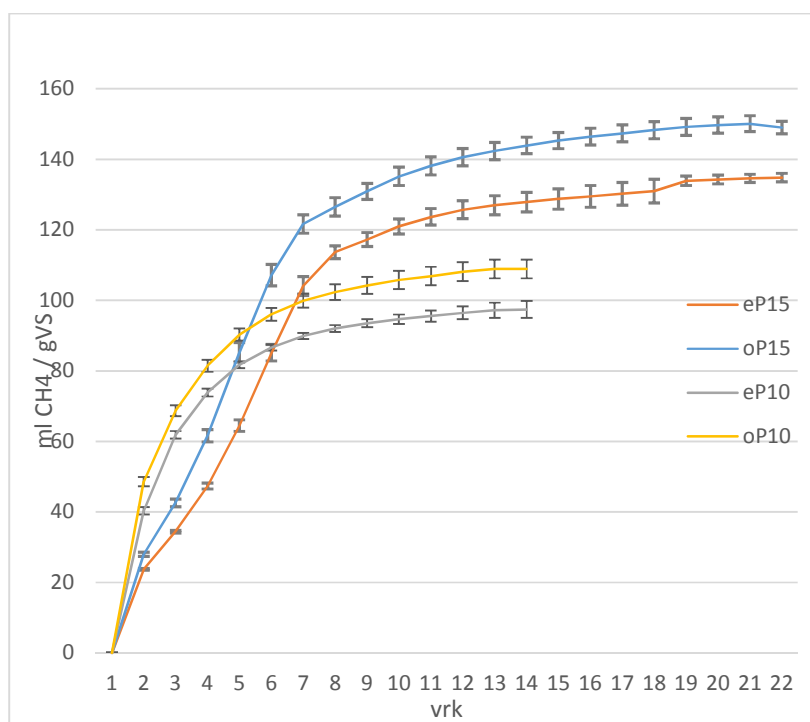
eP15 keskiarvon 95 % luottamusväli on 89,5–112,1

oP15u keskiarvon 95 % luottamusväli on 107,5–131,1

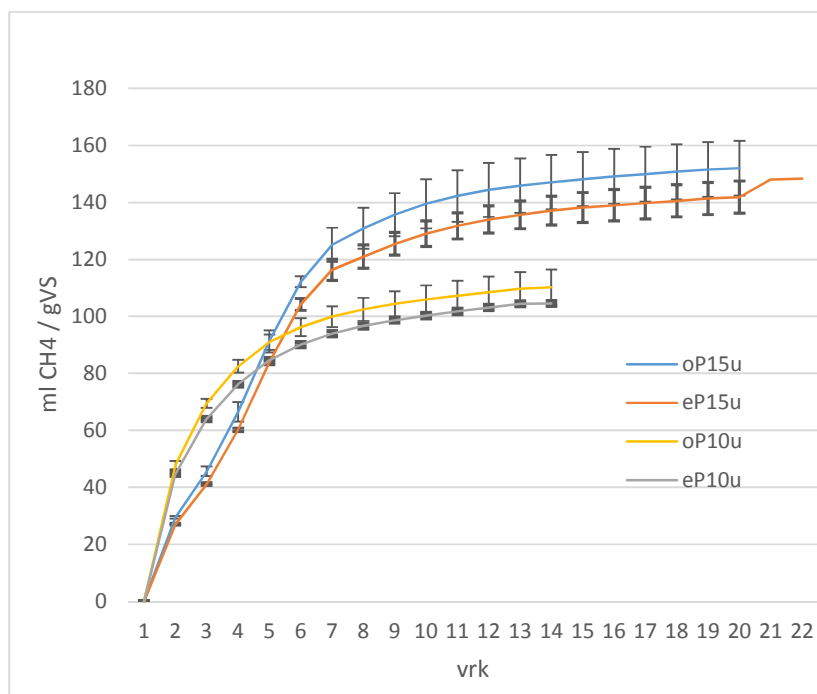
eP15u keskiarvon 95 % luottamusväli on 98,5–122,3

Sonikoimattoman orgaanisen polymeerin oP15 keskiarvon keskivirhe ja virhemarginaali oli muita pienempi.

Kuvioissa 17 ja 18 (s. 51) on molempien panoskokeiden kolmen rinnakkaisnäytteen vuorokausikohtaisten tuottojen keskiarvot lisättynä keskiarvon keskivirheellä. 22 vrk panoskokeen tunnus on 15 ja 14 vrk tunnus 10, jotka viittaavat polymeeriannostuksiin (15 ja 10 mg/l).



Kuvio 17. Ei-sonikoitujen polymeerien kumulatiivinen keskiarvotuotto 14 vrk panoskokeessa (eP10, oP10) ja 22 vrk panoskokeessa (eP15, oP15). Pylväät kuvaavat keskiarvon keskivirhettä.



Kuvio 18. Sonikoitujen polymeerien kumulatiivinen keskiarvotuotto 14 vrk panoskokeessa (eP10u, oP10u) ja 22 vrk panoskokeessa (eP15u, oP15u). Pylväät kuvaavat keskiarvon keskivirhettä.

9 JOHTOPÄÄTÖKSET JA POHDINTA

Seuraavassa on johtopäätöksiä ja pohdintaa kokeellisen osan ja kirjallisuusselvityksen pohjalta. Kokeellisessa osassa saatiin vahvistus kationisen epäorgaanisen polymeerin negatiivisesta vaikutuksesta metaanituottoon. Kirjallisuusselvityksessä nousi esiin tulosten ajoittainen ristiriitaisuus, joka johtuu AD-prosessin monimuotoisuudesta.

9.1 Kokeellinen osa

Kokeellisessa osassa selvitettiin prosessikemikaalien vaikutusta metaanituottoon kahdella polymeerillä, joita lisättiin lantaseokseen. Varsinaista metaanintuottoa dramaattisesti laskenutta inhibitiota ei esiintynyt käytetyillä annostuksilla 5 mg/l, 10 mg/l ja 15 mg/l. Annoskoon kasvattaminen ei ole järkevää käytännön kannalta, varsinkaan jos annos ylittää yleisesti käytetyt annostukset. Hyvin monet aineet ovat liika-annoksina inhiboivia, jolloin liika-annostus ei ole kovin hyödyllinen tapa tutkia inhibitiota.

Kokeellisen osan tavoite oli selvittää metaanintuoton paremmuusjärjestys polymeerittömän ja orgaanisen sekä epäorgaanisen polymeerikäsittelyn substraateilla. Epäorgaaninen kationinen polyakryyliamidi alensi metaanintuottoa johdonmukaisesti molemmissa panoskokeissa. Polyakryyliamidin vaikutusta on käsitelty luvussa 5.3.1. Chu ym. (2003, 763) mukaan vaikutus voi johtua biohajoavuutta vaikeuttavasta flokkirakenteesta. Sonikoinnilla pääsääntöisesti kaikkien näytteiden tuotot nousivat, epäorgaanisella polymeerillä keskiarvotuotto ylitti polymeerittömän näytteen tuoton toisessa panoskokeessa.

Pidemmässä 22 vuorokauden panoskokeessa sonikoinnin kaasuntuottoa parantava vaikutus oli epäorgaanisella polymeerillä 9 % ja orgaanisella 7 % verrattaessa sarjojen parhaiten tuottaneita näytteitä. Keskiarvoilla vastaavat epäorgaanisella 10 % ja orgaanisella 6 %, kun selvästi alemmin tuottanut rinnakkaisnäyte on jätetty huomiotta. Jos tämäkin näyte huomioidaan, oli sonikoidun orgaanisen polymeerinäytteen tuotto 6 % alempi.

Grönroos ym. (2004, 118) tutkimuksessa saatiin useimmiten 10–20 % parempia kaasuntuottoja, kun mitattiin kahdenkymmenen eri tavoin ultraäänikäsitellyn lietenäytteen metaanintuottoa. Jotkin käsittelyt vähensivät kaasuntuottoa. Tutkimuksessa muuttujina olivat ultraäänien intensiteetti, käsittelyaika ja lietteen TS välillä 0,6–2,5 %. Tutkimuksessa havaittiin sonikoinnin kyvyn lisätä liukoisien COD:n määrää lisäävän vastaavasti metaanintuottoa. Esiin nousi myös käsittelyn optimointitarve eri tapauksissa.

Kokeellisessa osassa sonikointia ei ollut optimoitu käsiteltäviin näytteisiin. Näytteiden etäisyys ultraäänilähteestä vaihteli ensimmäisessä panoskokeessa, joten käsittelyn voimakkuudessa saattoi esiintyä vaihtelua. Käsittelyn tehoa olisi voinut nostaa käyttämällä ohutseinäisempiä lasiastioita ja nostamalla läm-

pötilaa. Toisessa kokeessa näytteet käsiteltiin yksi kerrallaan ohutseinäisemmissä astioissa ja ultraäänilähteeseen nähden samassa kohdassa. Lämpötilaa ei voitu säätää mutta käsittelyaikaa nostettiin. Sonikoinnin aikana veden lämpötila laitteen altaassa nousi lähelle 40 °C. Kaasuntuottokokeen tulokset olivat kuitenkin samansuuntaisia kuin ensimmäisessä kokeessa.

9.2 Prosessikemikaalien häiriövaikutukset

Yleisesti käytetyt alumiini- ja rautasuolat aiheuttavat harvoin inhibitiota AD-prosessille. Yleisempi ja mittavampi haitta koituu näiden sitoessa fosforia ravinnekäyttöön sopimattomaan muotoon ja lisäksi alumiiniin sitoutuva orgaaninen aines voi jäädä hajoamatta reaktorissa, jolloin hyötysuhde laskee. Myöskään polymeerit eivät yleensä haittaa prosessia, kationisia lukuun ottamatta. Kationisten polyelektrolyyttien antimikrobisia ominaisuuksia hyödynnetään mm. vedenpuhdistuksessa, jonka poisteet siirretään usein AD-prosessiin. Kehitys on tosin kulkenut kohti suuremman molekyylipainon kationisia polyelektrolyyttejä, jotka ovat vakaampia, vähemmän haihtuvia ja joiden jäännöstoksisuus on pienempi kuin aiemmin käytetyissä kevyen molekyylipainon polyelektrolyyteissä.

Prosessikemikaalien tuotekehitys tulisi kulkea suuntaan, jossa kemikaali toimii myös substraattina eikä kerry prosessiin tai poisteseen. Luonnosta peräisin olevat polymeerit ovat tämän suhteen lupaavia. AD-prosessin syötteeseen tulevien prosessikemikaalien rajausta ja tunnistusta on hankalaa, jos syöte tulee useasta lähteestä ja eri lähteiden osuuksissa on vaihtelua. Suoraan AD-prosessiin lisättävät kemikaalit ovat helpommin valvottavia. Useimmat käytetyistä kemikaaleista ovat kohtuullisina annoksina harmittomia ja jopa AD-prosessia hyödyttäviä. Annoskoon kasvaessa tai kemikaalin kertyessä prosessiin haittavaikutukset alkavat ilmetä, näin tapahtuu yleisesti muissakin biologisissa systeemeissä.

AD-prosessissa on runsaasti tekijöitä joiden keskinäisiä vaikutuksia ei ole selvitetty. Prosessin rooli jätevirtojen eräänlaisena viimevaiheen käsittelynä kerryttää prosessiin monista lähteistä aineita, joiden vaikutuksia ei vielä tunneta, esimerkiksi lääkeaineet, elintarviketuotannon kemikaalit ja nanopartikkelit. Mikrobit itsessään katalysoivat monipuolisesti eri aineiden reaktioita. Yksityiskohtainen selvitys monimutkaisten biologisten tekijöiden säätelystä tapahtumista AD-prosessissa puuttuu. Uuden on-line analyysitekniikan yleistyminen lupaa parannuksia prosessin hallintaan ja hyötysuhteeseen.

LÄHTEET

- Accepta. N.d. Alumiinikloorihydraatin tuote-esite. Viitattu 2/2015. Saatavilla: <http://www.accepta.com/water-treatment-chemicals-wastewater-effluent-treatment-products/wastewater-effluent-treatment-coagulants-aluminium/344-aluminium-hydroxide-chloride-general-purpose-coagulant-8303>
- Azam, H. & Finneman, K. 2012. Ferric iron amendment increases Fe(III)-reducing microbial diversity and carbon oxidation in on-site wastewater systems. *Cemosphere* 90. Viitattu 2/2015.
- Beltrán-Heredia, J., Sánchez-Martín, J. & Dávila-Acedo, M.A. 2010. Optimization of the synthesis of a new coagulant from a tannin extract. *Journal of Hazardous Materials* 186. Viitattu 2/2015.
- Bodegom, P., Schulten, J. & Stams, A. 2004. Direct inhibition of methanogenesis by ferric iron. *FEMS Microbiology Ecology* 49. Viitattu 2/2015.
- Bolto, B. & Gregory, J. 2007. Organic polyelectrolytes in water treatment. *Water Research* 41. Viitattu 2/2015.
- Cabirol, N., Barragan, E.J., Duran, A. & Noyola, A. 2003. Effect of aluminium and sulphate on anaerobic digestion of sludge from wastewater enhanced primary treatment. *Water Science and Technology* 48. Viitattu 2/2015.
- Campos, E., Almirall, M., Martínez-Almela, J., Palatsi, J. & Flotats, X. 2006. Feasibility study of the anaerobic digestion of dewatered pig slurry by means of polyacrylamide. *Bioresource Technology* 99. Viitattu 2/2015.
- Cardinali-Rezende, J., Colturato, L., Colturato, T., Chartone-Souza, E., Nascimento, A. & Sanz, J. 2012. Prokaryotic diversity and dynamics in a full-scale municipal solid waste anaerobic reactor from start-up to steady-state conditions. *Bioresource Technology*. Viitattu 2/2015.
- Chai, S.L., Robinson, J., Mei, F.C. 2014. A review on application of flocculants in wastewater treatment. *Process Safety and Environmental Protection*. 92. Viitattu 2/2015.
- Chang, L., Raudenbush, D.L. & Dentel, S.K. 2001. Aerobic and anaerobic biodegradability of a flocculant polymer. *Water Science and Technology* 44. 461–468. Viitattu 2/2015.
- Chattopadhyay, B.D. & Thakur, A.R. 2002. Inhibition of methanogenesis by interaction of aluminium ion with co-factor F-420 in *Methanosarcina barkeri*. *Indian Journal of Experimental Biology* 41. 915 – 917. Viitattu 2/2015.
- Chen, Y., Cheng, J. & Creamer, K. 2007. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology* 99. Viitattu 2/2015.

Chu, C.P., Lee, D.J., Chang, B-V., You, C.H., Liao, C.S. & Tay, J.C. 2003. Anaerobic digestion of polyelectrolyte flocculated waste activated sludge. *Chemosphere* 53, s. 757 – 764. Viitattu 2/2015.

Chu, C.P., Lee, D.J., Chang, B-V., You, C.H. & Tay, J.C. 2001. “Weak” ultrasonic pre-treatment on anaerobic digestion of flocculated activated biosolids. *Water Research* 36. Viitattu 2/2015.

Costa, R., Pereira, J.L., Gomes, J., Gonçalves, F., Hunkeler, D. & Rasteiro, M.G. 2014. The effects of acrylamide polyelectrolytes on aquatic organisms: Relating toxicity to chain architecture. *Chemosphere* 112. Viitattu 2/2015.

De Dietrich. N.d.Viitattu 2/2015. Saatavilla:

<http://www.dedietrich.com/index.php?cmpref=67438&lang=en&module=media&action=Display>

Fang, H., Xu, L. & Chan, K. 2002. Effects of toxic metals and chemicals on biofilm and biocorrosion. *Water Research* 36. Viitattu 2/2015.

Feng, Y., Zhang, Y., Quan, X. & Chen, S. 2013. Enhanced anaerobic digestion of waste activated sludge digestion by the addition of zero valent iron. *Water research* 52. Viitattu 2/2015.

Gadd, G. 2010. Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. Society for General Microbiology. Viitattu 2/2015. Saatavilla: <http://mic.sgmjournals.org/content/156/3/609.full>

Goiri, I., Garcia-Rodriguez, A. & Oregui, L.M. 2008. Effect of chitosan on mixed ruminal microorganism fermentation using the rumen simulation technique (Rusitec). *Animal Feed Science and Technology* 152. Viitattu 2/2015.

Graham, N., Gang, F., Fowler, G. & Watts, M. 2007. Characterisation and coagulation performance of a tannin-based cationic polymer: A preliminary assessment. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 327. Viitattu 2/2015.

Grönroos, A. 2010. Ultrasonically Enhanced Disintegration. VTT Publications 734. Viitattu 2/2015.

Grönroos, A., Kyllönen, H., Korpijärvi, K., Pirkonen, P., Paavola, T., Jokela, J. & Rintala, J. 2004. Ultrasound assisted method to increase soluble chemical oxygen demand (SCOD) of sewage sludge for digestion. *Ultrasonics Sonochemistry* 12. Viitattu 2/2015.

Haveroen, M.E., MacKinnon, M. & Fedoraka, M. 2005. Polyacrylamide added as a nitrogen source stimulates methanogenesis in consortia from various wastewaters. *Water Research* 39 (3333- 3341). Viitattu 2/2015.

Heinonen, T. 2014. Biokaasulaitoksen rejektiveden kierrätys prosessivetenä. Hämeen ammattikorkeakoulu. Opinnäytetyö. Viitattu 2/2015. Saatavilla: http://www.theseus.fi/bitstream/handle/10024/78784/Heinonen_Taru.pdf?sequence=1

Higgins, M.J. 2010. Evaluation of aluminum and iron addition during conditioning and dewatering for odour control. Bucknell University. Viitattu 2/2015. Saatavilla: http://borr.werf.org/File/WERF%20Phase%20IV%20Odor%20Draft%20Final%20Report%20WERF%20Format%20rev%206%208%2009%20_2_.pdf

Jang, H.M., Cho, H.U., Park, S. K., Ha, J.H. & Park, J.M. 2013. Influence of thermophilic aerobic digestion as a sludge pre-treatment and solids retention time of mesophilic anaerobic digestion on the methane production, sludge digestion and microbial communities in a sequential digestion process. Water Research 48. 1- 14. Viitattu 2/2015.

Ji, J., Qiu, J., Wai, N., Wong, F-S. & Li, Y. 2009. Influence of organic and inorganic flocculants on physical–chemical properties of biomass and membrane-fouling rate. Water Research 44. Viitattu 2/2015.

Jiang, S., Chen, Y., Zhou, Q. & Gu, G. 2007. Biological short-chain fatty acids (SCFAs) production from waste-activated sludge affected by surfactant. Water Research 41. Viitattu 2/2015.

Kemira. N.d. Viitattu 2/2015.
<http://www.kemira.com/fi/toimialat-sovellukset/sivut/sovellus-tuotehaku.aspx>

Khanal, S.K. 2009. Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production. Wiley-Blackwell Publishing. Viitattu 2/2015.

Kopsala, S. 2014. Lietteen käsittelyssä käytettyjen koagulanttien vaikutus mädätysprosessiin. Hämeen ammattikorkeakoulu. Opinnäytetyö. Viitattu 2/2015. Saatavilla: <https://www.theseus.fi/handle/10024/85239>

Kougias, P.G., Boe, K., Tsapekos, P. & Angelidaki, I. 2013. Foam suppression in overloaded manure-based biogas reactors using antifoaming agents. Biore-source Technology 153. Viitattu 2/2015.

Latvala, M. 2009. Paras käytettävissä oleva tekniikka (BAT) – Biokaasun tuotanto suomalaisessa toimintaympäristössä. Suomen ympäristökeskuksen julkaisu 24 (2009). Viitattu 2/2015. Saatavilla: https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/37998/SY_24_2009.pdf?sequence=1

Lee, C.L., Robinson, J. & Chong, M.F. 2014. A review on application of flocculants in wastewater treatment. *Process Safety and Environmental Protection* 92. Viitattu 2/2015.

Li, L., He, Q., Wei, Y., He, Q. & Peng, X. 2014. Early warning indicators for monitoring the process failure of anaerobic digestion system of food waste. *Bioresource Technology* 171. Viitattu 2/2015.

Liu, Y., Zhang, Y., Quan, X., Li, Y., Zhao, Z., Meng, X. & Chen, S. 2012. Optimization of anaerobic acidogenesis by adding Fe₀ powder to enhance anaerobic wastewater treatment. *Chemical Engineering Journal* 192. Viitattu 2/2015.

Luo, Y., Yang, Z., Xu, Z., Zhou, L., Zeng, G., Huang, J., Xiao, Y. & Wang L. 2011. Effect of trace amounts of polyacrylamide (PAM) on long-term performance of activated sludge. *Journal of Hazardous Materials* 189. Viitattu 2/2015.

Madsen, M., Holm-Nielsen, J. & Esbensen, K. 2011. Monitoring of anaerobic digestion processes: A review perspective. *Renewal and Sustainable Energy Reviews* 15. Viitattu 2/2015.

Mata-Alvarez, J., Dosta, J., Romero-Güiza, M.S., Fonoll, X., Peces, M. & Astals, S. 2014. A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. *Renewable and Sustainable Energy News*. 412 – 427. Viitattu 2/2015.

Moeller, L., Goersch, K., Neuhaus, J., Zehnsdorf, A. & Mueller, R. 2012. Comparative review of foam formation in biogas plants and ruminant bloat. *Energy, Sustainability and Society* 2/2012. Viitattu 2/2015.

Monlau, F., Sambusiti, C., Barakat, A., Quéméneur, M., Trably, E., Steyer, J-P. & Carrère, H. 2014. Do furanic and phenolic compounds of lignocellulosic and algae biomass hydrolyzate inhibit anaerobic mixed cultures? A comprehensive review. *Biotechnology advances*. Viitattu 2/2015.

Mu, H., Chen, Y. & Xiao, N. 2011. Effects of metal oxide nanoparticles (TiO₂, Al₂O₃, SiO₂ and ZnO) on waste activated sludge anaerobic digestion. *Bioresource technology* 102. Viitattu 2/2015.

Nelson, M.C., Morrison, M. & Yu, Z. 2010. A meta-analysis of the microbial diversity observed in anaerobic digesters. *Bioresource Technology* 102. 3730–3739. Viitattu 2/2015.

Novalab. 10.10.2014. Tutkimustodistus. Viitattu 2/2015. [Ei julkinen].

Patra, A.K. & Saxena, J. 2009. A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry* 71. Viitattu 2/2015.

Peeters, B., Dewil, R., Vernimmen, L., Van den Bogaert, B. & Smets, I. 2013. Addition of polyaluminiumchloride (PACl) to waste activated sludge to mitigate the negative effects of its sticky phase in dewatering-drying operations. *Water Research* 47. Viitattu 2/2015.

Pereira, M.A., Pires, O.C., Mota, M. & Alves, M.M. 2005. Anaerobic biodegradation of oleic and palmitic acids: Evidence of mass transfer limitations caused by long chain fatty acid accumulation onto the anaerobic sludge. Wiley Publishing. Viitattu 2/2015.

Pervin, H.M., Dennis, P.G., Lim, H.J., Tyson, G.W., Batstone, D.J. & Bond, P.L. 2013. Drivers of microbial community composition in mesophilic and thermophilic temperature-phased anaerobic digestion pre-treatment reactors. *Water Research* 47. Viitattu 2/2015.

Pina, R.G. & Cervantes, C. 1996. Microbial interactions with aluminium. *Bio-metals* 9. Viitattu 2/2015.

Rajagopal, R., Massé, D. & Singh, G. 2013. A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. *Bioresource Technology* 143. Viitattu 2/2015.

Renault, F., Sancey, B., Charles, J., Morin-Crini, N., Badot, P.M., Winterton, P. & Crini, G. 2009. Chitosan flocculation of cardboard-mill secondary biological wastewater. *Chemical Engineering Journal* 155. Viitattu 2/2015.

Rizzo, L., Di Gennaro, A., Gallo, M. & Belgiorno, V. 2007. Coagulation/chlorination of surface water: A comparison between chitosan and metal salts. *Separation and Purification Technology* 62. Viitattu 2/2015.

Rodríguez, S., Kennedy, M., Diepeveen, A., Prummel, H. & Schippers, J. 2007. Optimization of PACl dose to reduce RO cleaning in an IMS. *Desalination* 220. Viitattu 2/2015.

Ruan, X. & Li, L. 2012. Flocculating characteristic of activated sludge flocs: Interaction between Al^{3+} and extracellular polymeric substances. *Journal of Environmental Sciences* 25. Viitattu 2/2015.

Schnürer, A. & Jarvis, Å. 2009. Microbiological Handbook for Biogas Plants. Swedish Waste Management U2009:03. Swedish Gas Centre Report 207. Viitattu 1/2015. Saatavilla:
http://www.eac-quality.net/fileadmin/eac_quality/user_documents/3_pdf/Microbiological_handbook_for_biogas_plants.pdf

Sun, F., Pei, H.Y., Hu, W.R., Li, X.Q., Ma, C.X. & Pei, R.T. 2013. The cell damage of *Microcystis aeruginosa* in PACl coagulation and floc storage processes. Separation and Purification Technology 115. Viitattu 2/2015.

Suvilampi, J., Lehtomäki, A. & Rintala, J. 2004. Comparative study of laboratory-scale thermophilic and mesophilic activated sludge processes. Water Research 39. Viitattu 2/2015.

Wang, J-S., Hu, Y-Y. & Wu, C-H. 2004. Comparing the effect of bioflocculant with synthetic polymers on enhancing granulation in UASB reactors for low-strength wastewater treatment. Water SA 31. Viitattu 2/2015. Saatavilla: <http://www.wrc.org.za>

Yaganza, E-S., Rioux, D., Simard, M., Arul, J. & Tweddell, R. 2004. Ultra-structural Alterations of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* caused by treatment with aluminum chloride and sodium metabisulfite. Applied and Environmental Microbiology. American Society for Microbiology. Viitattu 2/2015. Saatavilla: <http://aem.asm.org/content/70/11/6800.full>

Yang, Y., Guo, J. & Hu, Z. 2013. Impact of nano zero valent iron (NZVI) on methanogenic activity and population dynamics in anaerobic digestion. Water Research 47. Viitattu 2/2015.

Yin, C-Y. 2010. Emerging usage of plant-based coagulants for water and wastewater treatment. Process Biochemistry 45. Viitattu 2/2015.

Zhang, Y., Feng, Y., Yu, Q., Xu, Z. & Quan, X. 2014. Enhanced high-solids anaerobic digestion of waste activated sludge by the addition of scrap iron. Bioresource Technology. Viitattu 2/2015.

Zhen, G., Lu, X., Niu, J., Su, L., Chai, X., Zhao, Y., Li, Y-Y., Song, Y & Niu, D. 2013. Inhibitory effects of a shock load of Fe(II)-mediated persulfate oxidation on waste activated sludge anaerobic digestion. Chemical Engineering Journal 233. Viitattu 2/2015.

Ammoniakki-inhibitio eri lähteissä, (Rajagopal R., Massé D., Singh G. 2013)

Liite 1

Table 2
Ammonia inhibition during the AD of organic feedstock's (animal wastes in particular).

Substrate	Reactor type	Feed TS (VS)	Inoculum	Operating conditions	Inhibition threshold		pH	VFA mg/L	Results and comments	References
					FAN mg/L	TAN mg/L				
CM ^a	CFR ^c	6.4% (4.5)	–	Temp: 55 °C; HRT: 15 d	900	>4000	7.9	>3000 (as acetate)	Methane yield decreased to 25%, with both 4000 and 6000 mg N/L added, compared to the controls with 1500 mg N/L ammonia.	Angelidaki and Ahring (1993)
CM ^a	CSTR ^f	(4.2)%	Acc. ⁱ	Temp: 40–64 °C; HRT: 15 d Ammonia loading: 2.5 and 6.0 g N/L	>700	–	7.4–7.9	>4000	Reduction of temperature below 55 °C resulted in relief from inhibition caused by ammonia and hence biogas yield increased from 0.18 to 0.30 L/g VS, along with a decrease of the VFA.	Angelidaki and Ahring (1994)
CM ^a	UASB ^g	7.0% (5.0)	Acc. ⁱ	Temp: 55 °C; HRT: 15 d	995 (Initial inhibition)	Max. 7000	7.9	>3000 (as acetate)	SMA ^j of ammonia-inhibited reactors (7000 mg N/L) with acetate or hydrogen as substrate was reduced by 72 and 56%, respectively.	Borja et al. (1996)
SM ^b	CSTR ^f	(4.5)%	Acc. ⁱ	Temp: 37, 45, 55 and 60 °C; HRT: 15 d	1100	–	8.0	>4000 (as acetate)	Methane yield decreased from 188 (at 37 °C) to 22 (at 60 °C) mL CH ₄ /g VS.	Hansen et al. (1998)
Soluble non-fat dry milk supplemented with NH ₄ Cl	CSTR ^f	–	Acc. ⁱ	Temp: 55 °C; OLR: 4 gCOD/L d; HRT: 7 d	53	5800	6.4	2700 (as acetic acid)	As TAN concentration increased from 3000 to 5800 mg/L, CH ₄ production rate reduced from 14 to 7.3 L/d.	Sung and Liu (2003)
SM ^b	ASBR ^h	22 g/L (12.5)	Acc. ⁱ	Temp: 10 °C Cycle length: 4 weeks OLR: 1.1 gCOD/L d	62	4400	7.89	831 (as acetic acid)	– Methane yield decreased from 0.266 (at 20 °C) to 0.218 (at 20 °C) and 0.080 (at 10 °C) LCH ₄ /g CODfed.	Massé et al. (2003)
				Temp: 15 °C Cycle length: 4 weeks OLR: 1.4 gCOD/L d	96	4500	7.91	357 (as acetic acid)	–When temperature increased back to 20 °C, CH ₄ yield, VFA and SCOD reduction improved	
				Temp: 20 °C Cycle length: 4 weeks OLR: 1.4 gCOD/L d	185	4600	8.03	183 (as acetic acid)	–No inhibition by FAN reported	
CM ^a + digested biomass	CSTR ^f	16.5–27.1 g/L (12–21.2)	–	Temp: 55 °C HRT: 15 d	1200	>10,000	7.6	–	Dilution of biomass with fresh cattle manure resulted in the highest CH ₄ production rate during the recovery period	Nielsen and Angelidaki (2008)
SM ^b + solid fraction separated from pig farm	CSTR ^f	15.6% (12.6)	Acc. ⁱ	Temp: 55 °C HRT: 13.3 d OLR: 9.4 gVS/L digester/d	1450	11,000	7.6–8.08	>5700	–50% decrease in CH ₄ yield observed at 11,000 mg N/L	Nakakubo et al. (2008)
Ch.M ^c	Batch culture (Dry AD)	25% (14.5)	Acc. ⁱ	Temp: 37 °C	–	8000–14,000	7.3–8.8	1300–9400	–Isobutyric, butyric, and isovaleric acids can be useful as process indicators.	Abouelenien et al. (2009)
SS ^d	Batch study	8.5 g/L (4.4)	–	Temp: 35 °C COD/VS (substrate/inoculum) ratio:1–3	435–757	800–1400	8.0	<2000 (for COD:VS ratio of 1) >4000 (for COD:VS ratio of 2 and 3)	–Acclimation period: 254 d –Total volume of 4.4 LCH ₄ /kg CM was produced even at high levels of ammonia.	
									–No inhibition by FAN reported –AD of swine slurry are recommended to be carried out at the COD:VS ratio of 1, thereby avoiding reactor imbalances due to VFA accumulation	González-Fernández and García-Encina (2009)

^a CM, cattle manure.

^b Swine manure.

^c Ch.M, chicken manure.

^d Swine slurry (mixture of nursery, sow and feeder-to finish swine waste).

^e CFR, continuously fed reactor.

^f CSTR, continuously stirred tank reactor.

^g UASB, up-flow anaerobic sludge blanket reactor.

^h ASBR, anaerobic sequencing batch reactor.

ⁱ Acc., inoculum acclimatized to high ammonia concentration.

^j SMA, specific methanogenic activity.

Kemialliset koagulantit ja flokkulantit, (Chai ym. 2014).

Table 1 – Application of coagulation–flocculation process with chemical coagulant(s) and flocculant(s) in wastewater treatment.					
Coagulant(s)	Flocculant(s)	Type of wastewater		Optimum results	Reference
Ferric chloride, aluminium sulphate and lime	Neutral (N200), two cationic (K1370 and K506) and an anionic (A321) polyelectrolytes	Sanitary landfill leachates	COD Colour	About 80% removal About 100% removal	Tatsi et al. (2003)
Sodium diethyldithiocarbamate (DDTC) – trapping agent	Anionic polyacrylamide	Copper electroplating wastewater	Copper	99.6% removal	Li et al. (2003)
Modified alum (Envifloc-40L)	Industrial grade flocculant (Profloc 4190)	Palm oil mill effluent	Turbidity Water recovery	>98% removal 78%	Ahmad et al. (2005)
Lime, ferrous sulphate	Four cationic (FO-4700-SH, FO-4490-SH, FO-4350-SHU and FO-4190-SH) and two anionic (AN 934-SH and FLOCAN 23) polyelectrolytes	Olive mill effluent	TSS	30–95% removal	Ginos et al. (2006)
Alum, ferric chloride and ferric sulfate	Anionic polyacrylamide	Abattoir wastewater	TP COD	30–80% removal 10–40% removal	Amuda and Alade (2006)
Commercial coagulant: T-1	Commercial flocculants: Ecofloc 6260, Ecofloc 6700, Ecofloc 6705, Ecofloc 5400, Ecofloc 6708	Coffee wastewater	COD	94% removal 94% removal 97% removal	
Ferric chloride	Non-ionic polyacrylamide	Beverage industrial wastewater	COD TP TSS	55–60% removal	Zayas Pérez et al. (2007)
Alum/ferric salt	Synthetic cyanoguanidine-formaldehyde based polymer	Synthetic reactive dyes wastewater	Colour	91% removal 99% removal 97% removal	Amuda and Amoo (2007)
Alum and polyaluminium chloride (PACl)	Cationic (Organopol 5415) and anionic (Chemfloc 430A) polyacrylamides	Real reactive dye wastewater Pulp and paper mill wastewater	Colour	Almost 100% removal	Joo et al. (2007)
Palm oil mill boiler (POMB) – adsorbent	Cationic polymer (KP 1200B) and anionic polymer (AP 120C)	Ceramic industry wastewater	Turbidity TSS COD SVI Settling time	62% removal 99.7% removal 99.5% removal 95.6% removal 38 ml/g 12 s	Ahmad et al. (2008)
Mixture of ferric chloride and polyaluminium chloride	Cationic, anionic and non-ionic polyacrylamides	High-phosphorus hematite flotation wastewater	Boron TSS	15–3 mg/L 2000–5 mg/L	Chong et al. (2009)
Aluminium polychloride	Anionic polyacrylamide (Actipol A-401)	Wastewater from sauce manufacturing plant	Turbidity COD	13,530–12NTU 82% removal	Yang et al. (2010) Martín et al. (2011)

Kopolymeerisia flokkulantteja (Chai ym.2014).

Table 7 – Application of grafted flocculants in wastewater treatment.					
Coagulant(s)	Flocculant(s)	Type of wastewater	Optimum results		Reference
Aluminium chloride	Chitosan grafted PDMC (poly(2-methacryloyloxyethyl) trimethyl ammonium chloride)	Paper recycling wastewater	Turbidity	687–8.7NTU	Wang et al. (2007)
Aluminium chloride	(2-methacryloyloxyethyl) trimethyl ammonium chloride (DMC) grafted chitosan (cationic)	Pulp mill wastewater	Turbidity	99.4% removal	Wang et al. (2009)
–	Polyacrylamide grafted carboxymethylstarch (CMS-g-PAM)	Municipal sewage wastewater	Lignin COD Turbidity	81.3% removal 90.7% removal 20–4NTU	Sen et al. (2009)
–	Hydrolysed polyacrylamide grafted carboxymethylstarch (Hyd. CMS-g-PAM)	Textile industry wastewater	TS Turbidity	602–356 ppm 97–54NTU	Sen et al. (2011)
Aluminium chloride	Starch-g-PAM-g-PDMC [polyacrylamide and poly (2-methacryloyloxyethyl) trimethyl ammonium chloride]	Pulp mill wastewater	TS COD Turbidity	640–309 ppm 586–221 ppm 99.6% removal	Wang et al. (2011)
–	Polyacrylamide grafted carboxymethyl guar gum (CMG-g-PAM)	Municipal sewage wastewater	Lignin Water recovery Turbidity	88.4% removal 74% removal 64–9NTU	Pal et al. (2011)
–	Carboxymethylstarch grafted polyacrylamide, tamarind kernel polysaccharide grafted polyacrylamide, sodium alginate grafted polyacrylamide (nonionic or slightly anionic)	Dye solution Municipal sewage wastewater	TS COD Fe ³⁺ , Mn ²⁺ , Cr ²⁺ , Ni ²⁺ COD COD	630–230 ppm 540–210 ppm Almost 100% removal 63.5% removal 540–205 ppm	Pal et al. (2012)
–	Hydroxypropyl methyl cellulose grafted with polyacrylamide (HPMC-g-PAM)	Raw mine wastewater	TSS Fe ³⁺ , Mn ²⁺ , Cr ²⁺ , Ni ²⁺ Turbidity	335–55 ppm Nearly 100% removal 386.5–25.3NTU	Das et al. (2013)
–	Carboxymethyl chitosan grafted polyacrylamide (CMC-g-PAM)	Dye solution	TS COD Anionic dye (methyl orange) Cationic dye (basic bright yellow) Al ³⁺	928.7–167.5 ppm 364.2–112.6 ppm 93% removal 95% removal 85.8% removal	Yang et al. (2013)
–	Polyacrylamide grafted oatmeal (OAT-g-PAM)	Municipal sewage wastewater	COD Turbidity	90.4% removal 63–28NTU	Bharti et al. (2013)
–	Polyacrylamide grafted agar	Municipal wastewater	TS TSS COD	500–100 ppm 220–79.5 ppm 418–186 ppm	Rani et al. (2012)

Luonnollisia polymeereja (Chai ym. 2014)

Table 6 – Application of natural bio-flocculants in wastewater treatment.						
Category	Coagulant(s)	Flocculant(s)	Type of wastewater	Optimum results		Reference
Chitosan	Iron(III) chloride	Chitosan	Pulp and paper mill wastewater	Turbidity	10–1.1NTU	Rodrigues et al. (2008)
	–	Chitosan	Cardboard industry wastewater	COD	1303–516 mg/L	Renault et al. (2009a,b)
	–	Chitosan	Dye-containing solutions	COD	80% removal	
Tannin	Aluminium sulphate	Anionic tannin	Drinking water	Turbidity	85% removal	Szygula et al. (2009)
	Chitosan	Anionic tannin	Ink-containing effluent from cardboard box-making factory	Dye	99% removal	Özacar and Şengil (2003)
	–	Modified tannin (cationic Tanfloc)	Polluted surface water	Turbidity	300–2FTU	
	–	Modified tannin (cationic Tanfloc)	Municipal wastewater	Colour	>99% removal	Roussy et al. (2005)
	–	Modified tannin (cationic Tanfloc)	Polluted surface water	COD	84% removal	Beltrán Heredia and Sánchez Martín (2009)
	–	Modified tannin (cationic Tanfloc)	Municipal wastewater	Cu ²⁺ , Zn ²⁺ and Ni ²⁺	90%, 75% and 70% removal	
	–	Modified tannin (cationic Tanfloc)	Municipal wastewater	Turbidity	Almost 100% removal	Beltrán-Heredia and Sánchez-Martín (2009)
Gums and mucilage	–	Anionic Psyllium mucilage (<i>Plantago psyllium</i>)	Sewage effluent	COD	Around 50% removal	Mishra et al. (2002)
	–	Anionic Psyllium mucilage (<i>Plantago psyllium</i>)	Sewage effluent	BOD ₅	Around 50% removal	
	–	Neutral Fenugreek mucilage (<i>Trigonella foenum-graecum</i>)	Tannery effluent	TSS	95% removal	Mishra et al. (2004)
	–	Neutral Fenugreek mucilage (<i>Trigonella foenum-graecum</i>)	Tannery effluent	TSS	87% removal	
	–	Tamarind mucilage (<i>Tamarindus indica</i>)	Golden yellow dye and direct fast scarlet dye	TSS	85% removal	Mishra and Bajpai (2006)
	–	Tamarind mucilage (<i>Tamarindus indica</i>)	Golden yellow dye and direct fast scarlet dye	TSS	87% removal	
	–	Mallow mucilage (<i>Malva sylvestris</i>)	Biologically treated effluent	TDS	40% removal	Anastasakis et al. (2009)
	–	Mallow mucilage (<i>Malva sylvestris</i>)	Biologically treated effluent	Dye	60% and 25% removal	
	–	Anionic Okra gum (<i>Hibiscus/Abelmoschus esculentus</i>)	Biologically treated effluent	Turbidity	67% removal	Al-Hamadani et al. (2011)
	–	Anionic Isabgol mucilage (<i>Plantago ovata</i>)	Semi-aerobic landfill leachate	Turbidity	74% removal	
	–	Anionic Isabgol mucilage (<i>Plantago ovata</i>)	Semi-aerobic landfill leachate	COD	64% removal	Wu et al. (2012)
	–	Anionic Isabgol mucilage (<i>Plantago ovata</i>)	Semi-aerobic landfill leachate	Colour	90% removal	
Sodium alginate	Aluminium sulphate	Anionic sodium alginate	Synthetic dye wastewater	TSS	96% removal	Wu et al. (2012)
	Aluminium sulphate	Anionic sodium alginate	Actual textile wastewater	Colour	93% removal	
	Aluminium sulphate	Anionic sodium alginate	Actual textile wastewater	Colour	93.4% removal	Khiari et al. (2010)
	Aluminium sulphate	Anionic sodium alginate	Actual textile wastewater	COD	80.1% removal	
Cellulose	Aluminium sulphate	Anionic sodium carboxymethylcellulose (CMCNa)	Drinking water	Turbidity	93% removal	Suopajarvi et al. (2013)
	Ferric sulphate	Anionic dicarboxylic acid nanocellulose (DCC)	Municipal wastewater	Turbidity	40–80% removal	
	Ferric sulphate	Anionic dicarboxylic acid nanocellulose (DCC)	Municipal wastewater	COD	40–60% removal	

14 vrk panoskokeen metaanituottojen keskiarvot

eP5	eP10	eP10u	oP5	oP10	oP10u	0eP	0ePu	Y	YN
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
40,36	40,19	44,71	47,95	48,59	47,84	14,06	15,84	17,69	47,54
62,20	61,46	64,03	68,66	68,70	69,51	18,67	22,10	25,02	67,23
74,16	73,58	76,19	81,75	81,46	82,48	23,20	27,45	30,88	79,05
81,77	81,94	84,61	90,49	90,25	90,93	27,16	31,57	35,47	86,28
86,39	87,16	90,09	96,00	96,01	96,20	30,34	34,79	39,10	90,71
89,48	90,70	93,94	99,82	99,88	99,91	33,35	37,93	42,35	93,84
91,39	93,00	96,64	102,45	102,35	102,48	35,86	40,48	44,89	95,81
92,71	94,64	98,66	104,46	104,22	104,38	38,24	42,74	47,10	97,38
93,64	95,96	100,31	106,14	105,73	105,95	40,39	44,84	49,00	98,66
94,43	97,11	101,74	107,46	106,88	107,30	42,29	46,43	50,66	99,65
95,14	98,15	103,06	108,81	108,08	108,48	44,01	47,97	52,25	100,63
97,18	98,86	104,45	110,16	108,88	109,67	45,53	49,53	53,61	101,25
95,88	99,12	104,55	110,61	108,88	110,19	45,63	49,57	53,74	101,25

22 vrk panoskokeen metaanituottojen keskiarvot

eP15	eP15u	oP15	oP15u	YN	YNu
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
23,36	26,96	28,73	29,08	29,74	26,83
34,19	40,90	43,98	43,62	46,19	42,50
47,72	59,91	63,85	62,22	67,54	62,75
65,61	83,87	88,63	85,81	93,04	87,01
87,07	106,09	111,11	110,35	113,01	105,71
106,91	120,40	125,09	131,12	125,05	116,96
116,02	125,48	129,83	138,86	129,77	121,71
119,75	129,73	133,97	143,60	134,99	126,58
123,74	134,03	138,50	149,07	137,90	129,59
126,36	136,90	141,44	152,17	140,45	132,20
128,51	139,26	143,67	155,12	142,21	134,07
129,90	140,89	145,34	156,70	143,73	135,60
130,79	142,48	146,83	157,92	145,15	136,87
131,82	143,80	148,15	158,97	146,32	137,88
132,77	144,80	149,28	160,00	147,44	138,73
133,72	145,49	150,19	160,81	148,48	139,43
134,54	146,41	151,05	161,56	149,51	140,12
135,18	147,23	151,89	162,24	150,54	140,74
135,47	147,72	152,35	162,63	151,25	141,00
135,76	148,10	152,61		151,59	
135,96	148,33				